



République Algérienne Démocratique et Populaire

N° série :

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمادة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : **Biochimie appliquée**

THEME

Evaluation de certains marqueurs biochimiques, hématologiques et de stress oxydant pour la pronostique et la prédiction de la complication rénale chez des patients diabétiques de la région de Touggourt

Présentés Par :

Mr. Abid Ahmed

Mr. Tahraoui Mohammed Elhabib

Devant le jury composé de :

Présidente :	M ^{me} . Toumi Ikram	(MCA)	Université d'El Oued.
Examinatrice :	M ^{me} . Aouimeur Meriem	(MAA)	Université d'El Oued.
Promoteur :	Mr. Derouiche Samir	(MCA)	Université d'El Oued.

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

Nous souhaitons avant tout remercier ALLAH tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné l'inspiration et la patience d'accomplir cette étude.

Nous aimerons exprimer nos gratitudees à tous les personnes, trop nombreux pour les citer, qui ont pris le temps de faire notre sujet. Chacun de ces échanges nous avons aidé à faire avancer notre analyse.

En premier lieu nous remercions le directeur de mémoire Mr DEROUICHE SAMIR, pour le temps qu'il a consacré à nous apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche, il nous a guidé dans notre travail et nous a aidé à trouver des solutions pour avancer.

Nous exprime nos estime et nos vif remerciements aux honorables membres de jury : M^{me} Toumi Ikram et M^{me} Aouimeur meriem pour avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail qu'ils soient assurés de nos profond respect et de nos sincère reconnaissance.

Nos vifs remerciements vont également aux tous les personnages de laboratoire d'établissement hospitalière de Tougourt, et de laboratoire d'analyse médicales de d'établissement hospitalière d'eloued.

Un grand merci également à les médecin " M^{me} ZEGHOUD." d'avoir eu la patience de répondre à nos innombrables questions sur la nature du suivi médical pour les patients néphropatique.

Nous sommes également reconnaissante envers les 45 personnes qui, aux quatre coins d'tougourt, ont eu la gentillesse de participer à cette étude

Résumé

L'objectif de ce travail était d'évaluer la variation de certains marqueurs biologiques et de stress oxydatif à fin de diagnostic et de prédiction de la complication rénale chez des patients diabétiques dans la région de Touggourt. Notre expérimentation a été réalisée chez 45 individus volontaires ont été divisés en trois groupes. Le premier groupe individus sains (témoins), le deuxième groupe diabétique sans complication et le troisième groupe diabétique avec complication néphropathie, sur lesquelles nous avons dosés quelques paramètres biochimiques, hématologiques et de stress oxydatif. Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que le diabète est confirmé par l'hyperglycémie observée chez tous les patients diabétiques. Les résultats obtenus montrent aussi une augmentation significative ($P < 0.05$) de la concentration de l'urée, créatinine, l'acide urique, potassium et albumine sériques chez les patients diabétiques par rapport aux témoins et chez les patients diabétiques avec néphropathie par rapport aux diabétiques seules, par contre et d'après nos résultats on a observé une diminution significative de taux d'hémoglobine, globules rouges, globule blanc, hémocrite et une augmentation significative ($P < 0.05$) des plaquettes et de fer sérique chez le groupe des diabétiques avec complications néphrotiques contre le groupe des diabétiques seules. D'autre part, on a montré que une augmentation significative ($P < 0.05$) de la concentration de MDA, GSH, Vit C et une diminution de taux de thiol total dans le sérum des patients diabétiques avec et sans complications par rapport aux témoins. L'analyse de test ROC a montré que le thiol, GSH et MDA sérique sont des marqueurs prédictifs avec haute spécificité (100%) de complications néphrotiques de diabète. En conclusion la présente étude révèle que le diabète induit des altérations métaboliques et physiologiques et un déséquilibre de statut oxydant/antioxydant ce qui peut provoquer les complications néphrotique suggérant d'utiliser le GSH, MDA comme marqueurs de prédiction de cette complication de la maladie.

Mots clés: Diabète, néphropathie, stress oxydant, ROC, Touggourt.

الملخص:

الهدف من هذا العمل هو تقييم تغير بعض المعايير البيولوجية والإجهاد التأكسدي بغية التشخيص والتنبؤ بالمضاعفات الكلوية لدى مرضى السكري في منطقة تّقرت. تم تنفيذ تجربتنا على 45 فرد متطوعين وتم تقسيمهم إلى ثلاث مجموعات. المجموعة الأولى من الأفراد الأصحاء (الشواهد)، والمجموعة الثانية مرضى السكري بدون مضاعفات، والمجموعة الثالثة من مرضى السكري مع مضاعفات كلوية، حيث قمنا بقياس بعض المعايير البيوكيميائية والدموية والإجهاد التأكسدي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة أن مرض السكري تم تأكيده من خلال ارتفاع السكر في الدم الذي لوحظ في جميع مرضى السكري. كما أظهرت النتائج زيادة معنوية ($P < 0.05$) في تركيز اليوريا والكرياتينين وحمض اليوريا والبوتاسيوم والألبومين في مصل مرضى السكري مقارنة بالشواهد وعند مرضى السكري الذين يعانون من اعتلال الكلية مقارنة بمرضى السكر بدون تعقيدات، ومن ناحية أخرى ووفقاً لنتائجنا، لوحظ انخفاض كبير ($P < 0.05$) في الهيموجلوبين وخلايا الدم الحمراء وخلايا الدم البيضاء والهيماتوكريت وزيادة كبيرة ($P < 0.05$) في الصفائح الدموية ونسبة الحديد عند مرضى السكري مع مضاعفات الكلوية ضد مجموعة مرضى السكري بدون مضاعفات. ومن ناحية أخرى، بينت النتائج زيادة كبيرة ($P < 0.05$) في تركيز بيروكسيد الدهون الغلوتاثيون فيتامين س وانخفاض في مجموعة الثيول في مصل مرضى السكري الذين يعانون من مضاعفات وبدون مضاعفات مقارنة بالشواهد. من جهة أخرى أظهر تحليل اختبار ROC أن بيروكسيد الدهون والغلوتاثيون، والثيول في الدم هي معايير تنبؤية ذات خصوصية عالية (100%) للمضاعفات الكلوية لمرض السكري. في الختام، تكشف الدراسة الحالية أن مرض السكري يسبب تغيراً في التمثيل الأيضي والفيزيولوجي واختلالاً في حالة الأكسدة / مضادات الأكسدة التي قد تسبب مضاعفات كلوية مما نقتراح استخدام GSH ، MDA كعوامل تنبؤ لهذه المضاعفات لمرض السكري.

الكلمات المفتاحية: داء السكري ، اعتلال الكلية ، الإجهاد التأكسدي ، ROC، تّقرت.

Liste des figures:

Figure	Titre	Page
Figure 01	Courbe ROC de GSH, Thiol et Vit C chez les diabétiques	27
Figure 02	Courbe ROC de MDA, GSH et Vit C chez les diabétiques néphropathie	28
Figure 03	Corrélation entre la variation de GSH et les marqueurs rénales chez des patients diabétique avec néphropathie	29
Figure 04	Corrélation entre la variation de MDA et les marqueurs rénales chez des patients diabétique avec néphropathie	29

Liste des tableaux:

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Caractérisation démographique de population d'étude	24
Tableau 02	Concentration des paramètres biochimique chez le témoin et les groupes malades	24
Tableau 03	Concentration des électrolytes chez le groupe témoin et les groupes malades	25
Tableau 04	Taux des paramètres hématologiques chez le groupe témoin et les groupes malades	26
Tableau 05	Concentration de marqueurs de stress oxydatif sérique chez le témoin et les groupes malades	26
Tableau 06	Analyse de ROC des marqueurs de stress oxydatif chez les diabétiques.	27
Tableau 07	Analyse de ROC des marqueurs de stress oxydatif chez les diabétiques néphropathie	27

Liste des abréviations:

ADN	Acide désoxyribonucléique
AGPI	Acides gras poly-insaturés
AOX	Antioxydants
ALAT	Alanine amino transférase
ASAT	Aspartate aminotransférase
AGE	Advanced glycation End products (produits avancés de la glycation)
CAT	Catalase
DT1	Diabète insulino-dépendant ou diabète de type 1
DT2	Diabète non insulino-dépendant ou diabète de type 2
IRC	Insuffisance Rénale Chronique
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit (GSH)
GSSG-Red	Glutathion réductase
IMC	Indice de masse corporelle
O ₂	Oxygène.
OH	anions superoxydes.
OH•	Radical hydroxyle O ₂ Oxygène singulet.
OMS:	Organisation mondiale de la santé.
H ₂ O	Eau distillée.
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène.
H ₂ SO ₄	Acide Sulfurique.
MCV	Maladies cardiovasculaires
MDA	Malondialdéhyde
NO	Monoxyde d'azote
NADPH	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.
ND	Neuropathie diabétique
ND	Néphropathie diabétique
ND	Néphropathie diabétique
NO	L'oxyde d'azote.

NO2	dioxyde d'azote .
PLT	Plaquettes.
PS	Protéine de sardine
RD	Rétinopathie diabétique
RL	Radicaux libres
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
RNS	Réactive Azote Species.
SOD	Superoxyde dismutase
SOX	Stress oxydant
TBA	Thiobarbituricacid
TCA	L'acide thiobarbiturique
TGO	Transaminase glutamique oxaloacétique.
TGP	Transaminase glutamique pyruvique.
UV	Ultraviolet.

Table des matières	
DEDICACE	I
REMERCIEMENT	Ii
Résumé	Iii
Liste des Figures	Iv
Liste des Tableaux	Vi
Liste des Abréviations	Vii
Introduction	I
PREMIÈREPARTIE:SYNTHÈSEBIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I: LeDiabète	
1.Définition	4
2.Classification	4
2.1.Diabète de type	4
2.2.Diabète de type 2	4
3. Symptômes	5
3.1. Diabète de type 1	5
3.2. Diabète de type 2	5
4. Traitement	5
4.1. Les sulfamides hypoglycémiants (sulfonylurées)	6
4.2. Les biguanides	6
4.3. L'alpha-glucosidase	6
4.4. L'insulinothérapie	6
5. Complications	6
5.1. Les complications à court terme	6

5.1.1 Acidocétose	6
5.1.2. Acidose lactique	6
5.1.3 Coma Hyperosmolaire	7
5.1.4 Hyperglycémie diabétique	7
5.1.5 Céto-acidose	7
5.2. Les complications chroniques	7
5.2.1. La macroangiopathie diabétique	7
5.2.2 Microangiopathie diabétique	7
5.2.2.1 Rétinopathie diabétique (RD)	7
5.2.2.2 Neuropathie diabétique (ND)	8
5.2.2.3 Néphropathie diabétique	8
CHAPITRE II: Diabète néphropathie et Stress oxydatif	
1. Néphropathie Diabétique	10
2. Définition	10
3. Epidémiologie	10
4. Diagnostic de la néphropathie diabétique	11
5. Facteurs de risque de développement d'une néphropathie diabétique	12
6. Physiopathologie et mécanisme de la néphropathie diabétique	12
7. Diabète néphropathie et stress oxydatif	13
7.1 Equilibre Oxydatif	13
7.2 Stress oxydant dans les reins	13
7.3 Sources de ROS dans le rein	13
7.4 Rôle de ROS dans l'inflammation rénale	14
7.5 Mécanisme de complication rénale de diabète	14

DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE I: Matériel et méthodes	
I. Matériels	18
1. Patients et période de l'étude	18
1.1. Critère d'exclusion	18
1.2. Critère d'inclusion	18
II. Méthode	19
1. Prélèvement	19
2. Réactifs et produits	19
3. Détermination des paramètres Biochimiques	19
3.1. Détermination des paramètres hématologique	19
3.2. Détermination des électrolytes	19
4. Méthodes de dosage des paramètres de stress oxydatif	19
4.1. Dosage du malondialdéhyde (MDA) sérique	19
4.2. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH)	20
4.3. Dosage de thiol total sérique	21
4.4. Dosage de la vitamine C plasmatique	21
4.5. Détermination du pouvoir antioxydant ORAC	21
5. Méthodes d'analyse statistique	22
CHAPITRE II: Résultat et discussion	
1. Résultats	24
1.1 Description de population d'étude	24
1.2 Paramètres biochimiques	24
1.3 Les électrolytes	25

1.4 Paramètres hématologiques	25
1.5 Paramètres du stress oxydatif	26
1.6 Analyse de ROC des marqueurs de stress oxydatif	27
1.6.1 Chez les diabétiques	27
1.6.2 Chez les diabétiques néphropathie	27
2. Discussion	30
2.1 L'Hypertension Artérielle (HTA)	30
2.2 Glycémie et paramètres biochimiques	30
2.3 Paramètres hématologiques	32
2.4 Paramètre de stress oxydatif	33
Conclusion	37
Références bibliographique	40

Introduction

Introduction

Le diabète est un problème majeur de santé publique, une pathologie en pleine croissance et aux lourdes conséquences aussi bien humaines que socio-économiques (Trivin, 1998 ; Rabasa et al., 1999). Est un trouble du métabolisme du glucose, caractérisé par des niveaux de glycémie anormaux résultant de l'incapacité du corps de fabriquer l'insuline ou à l'utiliser (Jennifer L, 2011). Responsable chaque année de près de 4 millions de décès, cette pathologie est considérée par l'OMS comme une épidémie dont la prévalence a augmenté de façon très importante au cours de ces dernières années (Nabtich, 2012). Cette pathologie est le plus souvent accompagnée des complications sont liées à l'hyperglycémie chronique et aux facteurs de risques cardiovasculaires associés (Stratton et al., 2000). Elles sont nombreuses et touchent plusieurs organes, suite à une micro ou macroangiopathie (Raccach, 2004). Actuellement, Le diabète pose un vrai problème de santé publique par sa prévalence et le poids de ses complications chroniques dominées par les complications cardiovasculaires, le pied diabétique, l'insuffisance rénale chronique et la rétinopathie (Anonyme3,2015). Parmi les complications chroniques de diabète (microvasculaires) la néphropathie, il s'agit une maladie dégénérative qui par une atteinte glomérulaire spécifique (Collart, 2003). la néphropathie représente sans doute la maladie qui engendre le pronostic le plus défavorable. Outre le risque d'insuffisance rénale terminale (Raccach, 2004). Ces complications sont fortement liées au libération des radicaux libres et de stress oxydatif. Les radicaux libres (RL) sont responsables des altérations biologiques, ils inhibent, entre autre, la sécrétion d'insuline et interfèrent avec différentes étapes du couplage stimulus/sécrétion (Bonnard et al., 2008). Plusieurs études sur des lignées cellulaires in-vitro ont démontré que le stress oxydatif inhibe la transduction du signal de l'insuline (Kammounet al., 2009). Les effets délétères du stress oxydant sur les molécules permettent de comprendre son rôle dans un grand nombre de pathologies majeures (Delattre et al., 2007). À la lumière de ces informations, notre objectif pour ce travail est d'évaluer quelques marqueurs de diagnostics et pronostics et même de la prédiction des complications néphrotiques de diabète. Nous allons pour cela nous concentrer sur le dosage des paramètres biochimiques sanguins et hématologiques ainsi que l'évaluation des paramètres du stress oxydant.

Première partie

Synthèse

bibliographiques

Chapitre I

Diabète

1. Définition :

Le diabète sucré est une affection du métabolisme définie par une hyperglycémie chronique [glycémies plasmatiques à jeun (>8 heures de jeûne) supérieures à 1.26 g/l (7mmol/l)], dû soit à une carence insulinaire (diabète de type 1), soit à une résistance insulinaire (diabète de type 2), soit des deux (Wens et al ,2007). Selon l’OMS, un patient est diagnostiqué diabétique dès lors qu’il présente deux glycémies à jeun supérieures à 1.26 g/l, ou qu’une mesure de l’hémoglobine glyquée est supérieure à 6 %, ou encore qu’il obtient un résultat positif au test d’hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO : observation des variations de glycémie trois heures durant, chez un patient à jeun au départ, à qui l’on a demandé de boire une solution contenant 75 grammes de glucose). (Jennifer L, 2011.)

En 2014, 8,5% de la population adulte (18 ans et plus) était diabétique. En 2012, le diabète a été la cause directe de 1,5 million de décès et l’hyperglycémie a causé 2,2 millions de décès supplémentaires (Organisation mondiale de la Santé, 2016).

2. Classification :

Il existe plusieurs types de diabètes dont les 2 principaux sont :

2.1. Diabète de type 1 :

Anciennement diabète insulino-dépendant (DID ou juvénile), ce dernier correspond à la destruction des cellules β du pancréas, que l’origine soit idiopathique ou auto-immune (Gourdi, et al.,2008). La conséquence est la carence totale de la production d’insuline. Les causes exactes de son apparition ne sont pas connues ; dans la plupart des cas les cellules bêta du pancréas sont détruites par le système immunitaire et en l’état actuel des connaissances ce diabète n’est pas évitable. Environ 6-10% des personnes diabétiques sont de type 1.(Racine G, 2015)

Ces patients sont jeunes à la découverte du diabète (enfants, adolescents ou jeunes adultes). Cette découverte est en général brutale et accompagnée de cétose, les patients atteints n’ayant pas d’autres choix thérapeutiques que l’insulinothérapie.(Jennifer L, 2011).

2.2. Diabète de type 2 :

Anciennement diabète non insulino-dépendant, correspond à l’insulino-résistance périphérique ou à la diminution de l’insulino-sécrétion. Ce type de diabète est de loin le plus répandu, représentant 90% des cas (Racine G, 2015). il est en grande partie le résultat d’une surcharge

pondérale et de la sédentarité (80% des patients atteints sont en surpoids ou obèses).(BushetPignet, 2001).

Ce forme de diabète touche les personnes après 50 ans (Grimaldi, 2004),même si on observe de nos jours une augmentation de l'incidence chez l'enfant (International Diabètes Fédération, 2006).

3. Symptômes :

3.1. Diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 se développe souvent soudainement et peut entraîner selon les individus les symptômes suivants (Canivellet al., 2014) :

- Soif anormale et bouche sèche.
- Mictions (urines) fréquentes.
- Incontinence nocturne.
- Manque d'énergie et fatigue extrême.
- Faim constante.
- Perte de poids soudaine.
- Vision floue

3.2. Diabète de type 2 :

Les symptômes du diabète de type 2 incluent (William et Cefalu,2015) :

- Mictions (urines) très fréquentes.
- Manque d'énergie et fatigue extrême. - Faim extrême.
- Engourdissements et picotements dans les mains et les pieds. - Vision floue.
- Cicatrisation lente des blessures et infections récurrentes. - Soif excessive.

Beaucoup de gens souffrant d'un diabète de type 2 continuent d'ignorer leur maladie pendant longtemps, car les symptômes ne sont généralement pas aussi évidents que ceux du diabète de type 1 et peuvent mettre plusieurs années à être interprétés.

4. Traitement :

Le but de la thérapie antidiabétique est la stabilisation du taux de glucose sanguin à un taux le plus proche de la normal, sans provoquer d'hypoglycémie et prévenir les complications à long terme de diabète (Racine G, 2015). Pour atteindre ces objectifs, plusieurs thérapeutiques sont à notre disposition. Un régime alimentaire bien équilibré en glucides, en protéines et en lipides (Gin et Rigalleau, 1999), ainsi que l'exercice physique sont des composantes essentielles du traitement de diabète sucré (Charbonnel et Cariou, 1997).

les médicaments hypoglycémifiants oraux, qui peuvent être regroupés en 4 classes :

4.1. Les sulfamides hypoglycémiants (sulfonylurées) :

Ils stimulent la production d'insuline ; par les cellules β du pancréas en les sensibilisant à l'action du glucose. (Cozma et al, 2002).

4.2. Les biguanides :

ne fait pas sur la sécrétion insulinique et le mode d'action se situe au niveau du foie et des tissus cibles de l'insuline (diminution de la production hépatique du glucose et augmentation de la sensibilité périphérique à l'insuline) (Cheng et Fantus, 2005).

4.3. L'alpha-glucosidase :

ce fait la transformation les polysaccharides en monosaccharides et située dans l'intestin grêle. L'inhibition de cette enzyme ralentit la digestion des glucides et diminue leur absorption, aboutissant à une baisse des glycémies postprandiales et de l'HbA1c (Cheng et Fantus, 2005 ; Henquin, 2005).

4.4. L'insulinothérapie :

L'insulinothérapie sous-cutanée adaptée sur les résultats des glycémies capillaires (Rodier, 2001). et le cas de diabète de type 2 l'insulinothérapie est donnée en association avec d'autres antidiabétiques oraux, en cas d'obésité morbide, et en cas de carence insulinique (maladie évoluée) (Henquin, 2005).

5. Complication :

5.1. Les complications à court terme :

5.1.1 Acidocétose : développe chez un patient diabétique qui oublie son injection d'insuline. Le déficit en insuline provoquée: Une augmentation de la lipolyse, avec une libération accrue des acides gras libre dans le sang circulant, hypertriglycémie et d'autres perturbations rénales et gastriques (William et al., 2005; Sholits et al., 2006).

5.1.2 Acidose lactique : manifeste chez les diabétiques traités par la fenformine (antidiabétique orale de la classe des biguanides) (Buyssechaert., 2002).

5.1.3 Coma Hyperosmolaire : due à une hyperglycémie sévère, en association avec une déshydratation profonde et une osmolarité plasmatique très élevée. Elle se manifeste chez les diabétiques âgés touchés par le diabète type 2 (William et al., 2005).

5.1.4 Hyperglycémie diabétique : se manifeste chez les diabétique (type 1 et 2) utilisant l'insuline ou traités par des antidiabétique sulfosylurée (William et al., 2005).

5.1.5 Céto-acidose : est une carence absolue ou relative en insuline chez le diabétique de type 1 surtout (William et al., 2005; Sholits et al., 2006).

5.2 Les complications chroniques :

Les complications sont liées à l'hyperglycémie chronique et aux facteurs de risques cardiovasculaires associés (Stratton et al., 2000). Elles sont nombreuses et touchent plusieurs organes, suite à une micro ou macroangiopathie. Cependant, certains patients sont protégés malgré un mauvais contrôle glycémique (Racciah., 2004).

5.2.1 La macroangiopathie diabétique : L'athérosclérose une atteinte des artères de calibre supérieur à 200 μ m, il s'agit de complications macrovasculaires. Le diabète est associé à une athérosclérose apparaissant généralement de manière précoce (Geoffroy, 2005). Elle concerne le cœur (infarctus du myocarde), le cerveau (AVC ischémique qui est 2 à 5 fois plus fréquents que dans la population non diabétique) et les membres inférieurs avec l'artérite (Chevenne, 2004). La pathogenèse des macro-complications met en jeu trois facteurs principaux : des anomalies lipidiques (en particulier des modifications quantitatives et qualitatives des lipoprotéines), des anomalies de l'hémostase (hyperactivité plaquettaire et état de procoagulant) et des modifications pariétales (épaississement et perte de complaisance de la paroi vasculaire) (Geoffroy, 2005).

5.2.2 Microangiopathie diabétique : touche les petits vaisseaux (artérioles, veinules et capillaires de $\leq 30 \mu$ m). Elle associe une modification structurale de la lame basale endothéliale à une augmentation de la perméabilité pariétale à l'origine de la fuite des protéines plasmatiques (Duron et Heurtier., 2005), Elle concerne indifféremment tous les tissus et organes, mais ses manifestations cliniques ne deviennent sensibles qu'au neuropathie, des néphropathie et rétinopathie (Geoffroy., 2005).

5.2.2.1 Rétinopathie diabétique (RD) : Elle est caractérisée par une fragilité capillaire et une hyperperméabilité. Après 20 ans de diabète, la rétinopathie est présente chez 90% des

diabétiques(Chevenne., 2004). Elle menace donc les patients diabétiques après quelques années d'hyperglycémie mal maîtrisée, l'hypertension artérielle est un facteur aggravant majeur de la maladie (Strattonet al.,2001).

5.2.2.2 Neuropathie diabétique (ND) :

Elle est caractérisée par une atteinte du système nerveux périphérique. et très fréquentes (80% des diabétiques dont la durée de la maladie est supérieure à 15 ans) (Chevenne., 2004). Elle prédomine aux niveaux des membres inférieurs en raison de la plus grande fragilité des fibres longues sensibles peu myélinisés (Raccah, 2004).

5.2.2.3 Néphropathie diabétique (ND) :

Elle se définit par une atteinte glomérulaire spécifique, se caractérise par une destruction progressive de celle-ci, par sclérose, et sous les effets combinés de la macro et de la micro angiopathie, de l'ischémie et de l'hypertension (Raccah, 2004). Ce développement d'une insuffisance rénale chronique avec réduction progressive de la clearance de la créatinine jusqu'au stade ultime de l'insuffisance rénale terminale (Collart, 2003).

Chapitre II

Diabète néphropathie et stress oxydatif

1. Néphropathie Diabétique

Désignée autrefois par le terme la maladie rénale diabétique ou encore glomérulosclérose diabétique est la plus grave des complications microangiopathiques du diabète en pleine croissance (Mc.Farlane et al., 2003). les néphropathies donné lieu au plus grand nombre de travaux fondamentaux et d'essai cliniques, visant à mieux comprendre l'évolution et les facteurs d'initiation et de progression de la maladie, qui sont multiples, complexes et encore imparfaitement connus. (Monnier, 2014.)

2. Définition :

Connu par le syndrome de Wilson-Kimmelstiel et la glomérulonéphrite intercapillaire, est une maladie rénale progressive causée par une atteinte des petits vaisseaux des glomérules du rein(Adler et al., 2003). Elle est définie cliniquement par la présence d'une microalbuminurie ou d'une néphropathie patente chez un patient atteint de diabète en l'absence d'autres indicateurs de néphropathie (Mc.Farlane et al.,2003).

Le syndrome a été découvert par le médecin britannique Clifford Wilson (1906-1997) et l'Américain d'origine allemande médecin Paul Kimmelstiel (1900-1970) et a été publié pour la première fois en 1936 (ADA, 2000). Le syndrome peut être observé chez les patients souffrant de diabète chronique (15 ans ou plus après le début), afin que les patients soient généralement plus âgés (entre 50 et 70 ans) (Buleon, 2008). En général, le premier signe de la néphropathie diabétique est la Microalbimunurie (Adler et al.,2003).Celle-ci est définie par l'excrétion de 30 à 300 mg g-1d'albumine dans un échantillon (ADA,2000). La microalbuminurie considérée chez les diabétiques comme le signe d'une néphropathie débutante et la progression vers une protéinurie comme celui d'une néphropathie clinique ou manifeste (Mc.Farlane et al., 2003).

3. Epidémiologie :

Les néphropathie sont définies comme la présence, pendant plus de trois mois, d'anomalies rénales biologiques, morphologiques ou histologiques et/ou d'une insuffisance rénale (Lasaridis et Sarafidis, 2005). Les glomerulopathies représentent une entité pathologique caractérisée par une lésion de la structure et de la fonction des glomérules rénaux, d'origine inflammatoire ou non (Vivian et al., 2002). Elle est la première cause d'IRCT dans le monde et la première cause de la mise en dialyse(en France de moyenne, responsable de 27% des cas en 2009. En Algérie sur environ 13500 dialysés en 2009, il est estimé que 25% d'entre eux sont diabétiques (Ramache,2010). Les patients diabétiques dialysés chroniques ont un risque de décès vasculaire, deux fois plus important que les

dialysés non diabétiques, et 100 fois plus important que la population générale. La mortalité est supérieure à 25% dans les deux ans qui suivent la mise en dialyse chez les diabétiques (American M.A.S.,2006).

Avec 40% des causes d'insuffisance rénale chronique terminale, la néphropathie diabétique se place au premier plan des préoccupations en néphrologie (Lasaridis et Sarafidis,2005). Elle se développe classiquement chez 30% des patients diabétiques de type1 après 10 à 25 ans d'évolution. Sa prévalence est supérieure à celle des sujets ayant un DT2; 5-10% mais du fait de la prévalence supérieur du diabète de type2; plus des patients souffrent d'IRCT(Ahn et al., 1991). L'incidence de l'IRCT d'origine diabétique progresse le plus vite d'environ 10 à 15% par an. Aux Etats Unies d'Amérique, 20 à 30% des diabétiques développent une IRCT (American M.A.S.,2006). Cette augmentation d'incidence est attribuée à plusieurs facteurs dont notamment le vieillissement de la population, les facteurs socio-nutritionnels et enfin à une diminution de la mortalité cardio-vasculaire notamment liée à l'infarctus myocardique et aux AVC, permettant ainsi l'expression de la néphropathie diabétique (Bakker, 1999).

4. Diagnostic de la néphropathie diabétique

On procède au dépistage de la néphropathie diabétique parce que lorsqu'elle est décelée tôt et qu'un traitement efficace est amorcé rapidement, on peut retarder ou prévenir la perte de la fonction rénale et prendre en charge les complications (Mc.Farlane et al.,2003). Le dépistage de la microalbuminurie s'effectue par détermination du rapport albuminurie / créatininurie (RAC) à partir d'un échantillon d'urine aléatoire (Perkins et al.,2003). La détermination du RAC permet de prédire avec précision le taux urinaire de protéine dans les urines de 24heures(Ahn et al., 1991); elle est plus simple à s'effectuer et présente moins d'inconvénients pour les patients que pour les épreuves exigeant le recueil des urines pendant un temps donné (Bakker, 1999).La microalbuminurie est un important facteur de risque d'évolution de la néphropathie, mais il y a dans certains cas une normalisation spontanée des taux urinaires de protéines(Lasaridis et Sarafidis,2005).

Pour confirmer la néphropathie chez les patients qui présentent une microalbuminurie, il faut effectuer jusqu'à deux autres déterminations du RAC à partir d'un échantillon d'urine aléatoire(Ahn et al., 1991). Comme le RAC peut être élevé dans des situations autres que la néphropathie diabétique, telles qu'une activité physique intense récente, une fièvre, une infection des voies urinaires, une insuffisance cardiaque congestive, des élévations sévères

soudaines de la tension artérielle, ou de la glycémie ou les règles, il faut retarder le dépistage de la microalbuminurie dans ces situation (Mc.Farlane et al.,2003).

5. Facteurs de risque de développement d'une néphropathie diabétique :

Parmi ces facteurs, on distingue: mauvais contrôle de la glycémie, longue durée du diabète, présence de complications microvasculaires, hypertension préexistante, antécédents familiaux de néphropathie diabétique, antécédents familiaux d'hypertension, Tabagisme.(Haslett et al.,2005; McIsaac et Jerums, 2003).

6. Physiopathologie et mécanisme de la néphropathie diabétique :

Les études ont montré que les mécanismes physiopathologiques fondamentaux qui finissent par conduire à la néphropathie diabétique sont similaires dans le diabète de type1 et le diabète de type2(Wolf et Ritz.,2003). Cependant, d'autres facteurs nocifs, liés ou non au diabète, tels que l'hypertension artérielle pourraient également entraîner des lésions rénales (Wolf, 2005).

Le premier changement détecté est l'augmentation du volume du rein et glomérule par hypertrophie, associée à une hyperfiltration glomérulaire et une augmentation de l'excrétion urinaire d'albumine(Mauer, 1994; Buleon, 2008). Mais on constate que le glomérule préserve sa structure normale. Ces changements sont probablement dus aux facteurs hémodynamiques et restent encore réversibles(Lehmann et Schleicher, 2000).

Les facteurs génétiques peuvent influencer directement de la néphropathie diabétique. Des gènes potentiels ont bien été identifiés, mais une liaison n'a été retrouvée que dans certains groupes ethniques et non chez la majorité des patients(Berger et al., 2003).Pour comprendre les mécanismes physiopathologiques qui sont évoqués pour expliquer la toxicité cellulaire au glucose; plusieurs études ont montré que la voie de la glycation des protéines est la voie impliquée essentiellement dans la néphropathie diabétique (Wolf, 2005). Récemment, d'autres voies ont été identifiées tels que le stress oxydatif, la production des facteurs de croissances, l'activation d'enzymes impliquées dans la transduction du signal et le déficit en peptide C. Ces mécanismes conduisent à la dysfonction endothéliale au niveau du rein (Raccah, 2004).

7. Diabète néphropathie et stress oxydatif

7.1 Equilibre Oxydatif

Dans le système biologique, l'oxygène moléculaire forme plusieurs intermédiaires réactifs communément appelés ROS, qui sont de petites molécules sous tension dérivées de l'oxygène, instables et hautement réactives (Schieber & Chandel, 2014). Les ROS sont soit des molécules radicalaires notamment du superoxyde ($O_2 \cdot^-$), de l'hydroxyle ($\cdot OH$), du peroxyde ($ROO \cdot$) et de l'alcoyle ($RO \cdot$), ou des non-radicalaire tels que l'acide hypochloreux ($HOCl$), l'ozone (O_3), le l'oxygène singulier (1O_2) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ces ROS non radicalaire sont des agents oxydants qui sont facilement convertis en radicaux libres (Li et al., 2016). Dans des conditions physiologiques normales, les antioxydants endogènes et exogènes interagissent avec ces oxydants pour contrer les dommages oxydatifs aux cellules. Les mécanismes de défense antioxydants comprennent la superoxyde dismutase (SOD); système glutathion: glutathion peroxydase et glutathion réductase; catalase; et la coenzyme Q (Milkovic et al., 2019). Les enzymes antioxydantes convertissent principalement les ROS en molécules d'oxygène non réactives, formant finalement de l'eau. L'ensemble du système redox antioxydant utilise principalement le NADPH comme réducteur chimique, qui est principalement produit par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (Ray et al., 2012).

7.2 Stress oxydant dans les reins

Le stress oxydatif rénal est souvent une conséquence de la surproduction des radicaux libres induite par une enzyme pro-oxydante et de l'inactivation de système antioxydants (Nie et Hou, 2012). Parmi les nombreux systèmes enzymatiques impliqués dans la génération des espèces réactive oxygéné (ROS) dans le rein, les NOX semblent être les contributeurs les plus importants (Ishimoto et al., 2018). Une production excessive de ROS déclenche une fibrose et une inflammation rénales et cause des dommages importants aux tissus en favorisant la peroxydation lipidique, les dommages à l'ADN et la modification des protéines, ainsi qu'un dysfonctionnement mitochondrial (Baud et Ardaillou, 1993).

7.3 Sources de ROS dans le rein

De multiples mécanismes intracellulaires sont impliqués dans la production de ROS au niveau rénale, y compris la xanthine oxydase, les systèmes du cytochrome P450, la NO synthase (NOS), la chaîne respiratoire mitochondriale et les NOX (Araujo & Wilcox,

2014). Dans des conditions physiologiques, la xanthine oxydase produit une quantité indétectable de ROS dans le rein via la voie du métabolisme des purines (Duni et al., 2019). Les ROS dérivés de la xanthine oxydase sont associés à une dysfonction endothéliale chez les patients atteints de maladie coronarienne et à une dysfonction contractile dans l'insuffisance cardiaque (Kim et al., 2009). Cependant, sa contribution à DKD reste mal connue. D'autre part, le système du cytochrome P450 et NO synthase (NOS) ont un rôle indirect dans la production de ROS dans les reins (Kaushal et al., 2019).

7.4 Rôle de ROS dans l'inflammation rénale

Insuffisance rénale chronique, consistait en une inflammation. L'inflammation chronique est induite par des infections, des maladies auto-immunes, des médicaments chimiques et le stress oxydatif (Ratliff et al 2016). L'inflammation est une raison impérative de l'augmentation du stress oxydatif observée chez les patients présentant une insuffisance rénale, avec des facteurs tels que la malnutrition, la dysfonction autonome, un excès de volume chronique au milieu de certains facteurs concernés par l'état inflammatoire accru observé dans les lésions rénales (Morena et al., 2005). Les cellules inflammatoires sont à l'origine des radicaux libres sous forme d'espèces réactives d'O₂ et d'azote, tandis que les ROS sont considérées comme les plus générales (Duni et al., 2019).

7.5 Mécanisme de complication rénale de diabète

La maladie de néphropathie diabétique est considérée comme l'un des principaux problèmes micro-vasculaires du diabète sucré qui est devenue la cause unique la plus générale de maladie rénale terminale (Kashihara et al., 2010). Il est défini traditionnellement par des modifications morphologiques et fonctionnelles rénales comme; hyper-filtration glomérulaire, hypertrophie glomérulaire et rénale, augmentation de l'excrétion d'albumine urinaire, augmentation de l'épaisseur de la membrane basale glomérulaire (GBM), et expansion mésangiale et également accumulation de protéines extracellulaires (Bicu et al., 2010). Il est maintenant clair que de multiples voies sont impliquées dans la pathogenèse de la maladie rénale diabétique comme; voie de l'hexosamine, voie de la protéine kinase C (PKC), formation de produits finaux de glycation avancés (AGE), voie du polyol, facteurs de croissance, cytokines et radicaux libres. Il est à noter que toutes ces voies sont induites par un déséquilibre entre le stress oxydatif et les éléments antioxydants (Amorim et al., 2019). De plus, les preuves montrent que le stress oxydatif au cours de la maladie diabétique entraîne finalement l'abandon de l'homéostasie rénale normale et son bon fonctionnement. Il est bien

établi que la production de ROS augmentée dans les reins des patients diabétiques peut être affectée par des voies enzymatiques et non enzymatiques (Kashihara et al., 2010). D'après les preuves, un taux de glucose élevé agit par l'activation de la protéin kinase C (PKC) dans les glomérules diabétiques via la synthèse de novo du diacylglycérol (DAG). Ensuite, PKC crée des ROS provoquant ainsi une amélioration de l'expansion mésangiale, un épaissement des GBM et un dysfonctionnement des cellules endothéliales aboutissant à une maladie rénale diabétique (Jha et al., 2016). En outre, des niveaux élevés de glucose induisent des isoformes de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydases (NOX), en particulier NOX-4 qui se traduit par un dysfonctionnement endothélial, une inflammation et par conséquent une apoptose. De plus, les autres voies d'auto-oxydation du glucose telles que la formation accrue d'AGE, le flux de la voie des polyols et la glycation des protéines sont impliquées dans les lésions rénales directes et indirectes en produisant une proportion importante de ROS. (Mahmoodnia et al., 2017)

Deuxième partie
Partie expérimentale

Chapitre I

Matériels et méthodes

I. Matériels

1. Patients, région et période d'étude

Notre étude a été réalisée sur 45 hommes dans la région de Touggourt ont été répartie en 3 groupes de 15 individus chacun: un groupe des témoins avec moyenne d'âge (34.06 ± 3.03 ans) et le deuxième groupe diabétiques avec moyenne d'âge (53.75 ± 15.48 ans) et un groupe de diabétiques néphropathie âgés de (53.46 ± 13.49 ans). Notre travail a été approuvé par le comité d'éthique et tous les sujets ont participé volontairement.

Dans cette étude on a utilisé 45 individus ont été divisés en 3 groupes comme suite :

- ✓ **Groupe 1 (n=15)** : Individus volontaire sain « Témoin ».
- ✓ **Groupe 2 (n=15)** : Patients souffrant de diabète sucré sans complications « Diabétique ».
- ✓ **Groupe 3 (n=15)** : Patients souffrant de diabète sucré avec complication néphrotique « Diabétique néphropathie ».

Ce travail est réalisé dans la ville de Touggourt existe dans la région d'Oued Righ qui est une vallée située au nord-est du Sahara algérien. Elle couvre un axe Sud Nord dont la latitude est de 32° , $54'$ à 39° , $9'$ Nord et longitude 05° , $50'$ à 05° , $75'$ Est. Cette région est divisée naturellement en blocs appelés trios: Upper Oued Righ (Touggourt), au centre (Djamaa) et en bas de cette région (région de M'gheir) (Abdelkader et Hamid, 2012).

L'échantillonnage a été réalisé durant la période de octobre jusqu'à la fin de Février.

1.1. Critère d'exclusion

Les patients exclus dans la présente étude sont :

- Les personnes diabétiques âgés.
- Les personnes diabétiques souffrant des autres complications autres que néphrotiques.
- Les personnes diabétiques ont des autres maladies aiguës ou chroniques

1.2. Critère d'inclusion

Les patients inclus dans la présente étude sont les patients qui répondent aux caractéristiques suivantes :

- ✓ Confirmation du diagnostic des personnes diabétiques et néphropathie diabétique
- ✓ Les personnes diabétiques et néphropathie diabétique habitent dans la région d'Oued Righ.
- ✓ Facilitation du contact permettant un suivi rigoureux de l'expérimentation.
- ✓ Personnes témoins en bonne santé, ne présentant aucune pathologie.

II. Méthodes

1. Prélèvement

On prélève 5 mL de sang sur un tube contenant l'anticoagulant EDTA et le reste dans un tube zéro (sec) après presque 12 heures de jeûne et en conditions parfaitement stérilisées. Ces prélèvements ont été apportés rapidement au laboratoire pour éviter toute détérioration et contamination extérieure, centrifugés, aliquotés et conservés à -18°C jusqu'au moment de l'analyse et pour faire les paramètres qu'ils doivent être faire rapidement .

2. Réactifs et produits

Acide thiobarbiturique (TBA), Acide trichloroacétique (TCA), Tampon tris hydroxyéthylamino éthane (Tris), L'acide 5,5'-dithiobis 2 – nitrobenzoïque(DTNB).

3. Détermination des paramètres Biochimiques

Les taux d'urée sérique, acide urique, créatinine, de protéines sériques et lipide dans le sérum ont été déterminés à l'aide du kit commercial de Spinreact, Espagne (réf : urée-20141, acide urique-20091, créatinine-20151, Albumin-1001291 et fer-20111).

3.1. Détermination des paramètres hématologique

Les paramètres hématologiques (hémoglobine, hématocrite) sont déterminés par la méthode de Coulter en utilisant l'auto analyseur spécifique de l'FNS SYSMEX 4000i.

3.2. Détermination des électrolytes

La détermination du paramètre ionogramme (sodium et potassium) est par l'utilisation de l'analyseur d'électrolyte automatique (Easylute).

4. Méthodes de dosage des paramètres de stress oxydatif

4.1. Dosage du malondialdéhyde (MDA) sérique

Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532nm (Yagi., 1976).

Réactif

375mg de TBA, 20g de TCA, 0.01g de BHT, 25 ml de HCL 1 N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu' à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100ml et le volume complété à l'eau distillé jusqu'au de jauge.

Mode opératoire

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 200µl d'échantillon, 800 µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formes lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53.10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

4.2. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH)**Principe**

Le complexe formé entre le GSH et l'acide 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel présente une absorbance à 412nm (Weckbercker et Cory., 1988).

Mode opératoire

A 800µL de sérum sont ajoutés 200 µL de l'acide salicylique (0.25 %). Mélanger avec l'agitateur et laisser 15 minutes dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5 minutes. 500 µL de surnageant sont ensuite mélangés avec 1000 µL de tampon tris (tris 0.4mol, NaCl 0.02mol, PH=8.9) et 25µL de DTNB (0.01 mol.L⁻¹). Après 5min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue $\lambda=412 \text{ nm}$.

Expression des résultats

On calcule la concentration du GSH exprimée en Nanomoles par milligramme de protéines (nmol/mg Hb) selon la formule suivante :

$$GSH(nM/MgdeHb) = \frac{DO \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times mgdeHb} \times d$$

4.3. Dosage de thiol total sérique

Le thiol total sérique a été déterminé selon la méthode décrite par Ellman. Une partie aliquote du surnageant (50 µl) a été mélangée avec 1 ml de tampon Tris (0,25 M) -EDTA (20 mM) et lire l'absorbance à 412 nm. Ceci a été suivi de l'addition de 5 ml de DTNB 10 mM, puis faire deuxième lecture de l'absorbance a été prise après 15 min. L'absorbance du blanc de DTNB et du blanc d'échantillon a également été prise et les thiols totaux ont été calculés en utilisant la formule ci-dessous: Thiols totaux (U / L) = (A- B- C) (4,0 /0,2) / X

4.4. Dosage de la vitamine C plasmatique

La vitamine c plasmatique est mesurée selon la méthode de Jacota et Dani (1982) en utilisant le réactif de Folin. Ajoutez 1 ml de plasma à 0,5 ml de la solution de TCA (10%). Vortex placez ensuite les tubes dans un bain de glace pendant 30 min. Centrifuger à 3000 tr / min pendant 10 min. Prélever 0,75 ml de surnageant puis ajoutés 0,75 ml d'eau distillée et 150 µl de Folin (1/10). vortexer et incuber pendant 15 min à température ambiante. Lire la DO à l'aide d'un spectrophotomètre à blanc à 769 nm et déterminer la concentration de vitamine C (µg / ml) à partir de la courbe standard.

4.5. Détermination du pouvoir antioxydant ORAC

Principe

Le pouvoir antioxydant total du plasma, c'est à dire sa capacité à absorber les radicaux oxygènes libres (ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity) est estimé par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse induite par les radicaux libres in vitro en présence du plasma selon la méthode de . Cette méthode est basée sur le suivi en fonction du temps de l'hémolyse des globules rouges induite par un générateur de radicaux libres. (BLACHE., PROST., 1992).

Traitement des globules rouges

- Centrifuger le sang du donneur à 2000 t/min pendant 10 min et éliminé le plasma.
- Laver délicatement 1 volume du culot avec 2 volumes d'eau physiologique (sans lyser les GR), puis centrifuger à nouveau à 2000t/min pendant 5 min.

Mode opératoire

➤ Tube blanc

- On ajoute 1 ml de GR : 20 µl de CuSO₄(2mM), 20 µl d'H₂O₂ (30%) et 2 ml d'eau physiologique , puis remuer délicatement.
- Incuber 5 min à T° ambiante, centrifuger pendant 5 min à 2000t/min.
- Lire la DO à 450 nm du surnageant puis le remettre dans le tube et remuer délicatement.
- Répéter cette opération toutes les 10 min pendant 2 h.

➤ **Tube étalon**

- On ajoute à 1ml de GR : 20 µl de CuSO₄(2mM),20 µl d'H₂O₂ (30%) et 2 ml d'eau physiologique , et 20 µl de vitamine C (400 µM) puis remuer délicatement.
- Incuber 5 min à T° ambiante, centrifuger pendant 5 min à 2000t/min.
- Lire la DO à 450 nm du surnageant puis le remettre dans le tube et remuer délicatement.
- Répéter cette opération toutes les 10 min pendant 2 h.

➤ **Tube test**

- On ajoute à 1ml de GR : 20 µl de CuSO₄(2mM),20 µl d'H₂O₂ (30%) et 2 ml d'eau physiologique , et 20 µl sérum (400 µM) puis remuer délicatement.
- Incuber 5 min à T° ambiante, centrifuger pendant 5 min à 2000t/min.
- Lire la DO à 450 nm du surnageant puis le remettre dans le tube et remuer délicatement.
- Répéter cette opération toutes les 10 min pendant 1 h(t0, t10, t20, t30, t40, t50, t60, et faire la moyenne de ces dernières :
- $\Sigma DO = \Sigma(t0, t10, t20, t30, t40, t50, t60)/7$
- Pour calculer le pouvoir antioxydant total en utilisant deux méthode.

Calcule

$$ORAC (UI) = \frac{\Sigma(DO \text{ blanc} - DO \text{ échantillon}) \Delta t}{\Sigma(DO \text{ blanc} - DO \text{ étalon}) \Delta t}$$

5. Méthodes d'analyse statistique :

L'évaluation statistique est effectuée par le test T de student et test ROC par analyse de régression. Les résultats sont donnés sous forme de moyenne ± SEM pour 45 individus répartie en témoin, patients diabétiques et patients diabétiques néphropathie. Alors, on utilise

des logiciels MINITAB, STATISTICA et EXCEL qui nous aident pour faire les tests. Les moyennes sont considérées comme significativement différentes lorsque $P < 0.05$.

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Résultats :

1.1. Description de population d'étude

Notre population ciblée dans ce travail est caractérisée par plusieurs paramètres afin d'identifier ces populations, ces paramètres sont basés sur le choix de l'âge qui doit être équilibré entre les groupes pour éliminer l'effet de l'âge physiologique sur la variation des paramètres biologiques. Aussi on a identifié les populations étudiées par la mesure de la tension artérielle et l'indice de masse corporelle (IMC) à travers la mesure de poids et la taille.

Tableau1: Caractérisation démographique de population d'étude

Groupe	Age (ans)	Poids (kg)	Taille (m)	IMC (kg/m ²)	P. syst. (mmHg)	P. diast. (mmHg)
Témoins	34.06± 3.03	85.83± 16.24	1.72±0.070	28,96±2,36	12±0,00	8±0,00
Diabétiques	53.75±15.48	74.61±15.81	1.70±0.06	25.68±1.04	13.582±1.84	7.77±1.32
Diabétique-Néphropathie	53.46±13.49	70,89±5.09	1.68± 0.07	24,79±1,41	14,071±0,35	6,929±0,267

1.2. Paramètres biochimiques: Selon les résultats obtenus (tableau2) on observe une augmentation significative ($P < 0.05$) de la glycémie, la concentration de l'urée, créatinine, albumine acide urique et fer sérique dans les groupes diabétique et diabétiques néphropathie par rapport au groupe témoin et aussi on observe une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) de la concentration de urée, créatinine, acide urique et fer sérique dans le groupe des patients diabétiques néphropathie par rapport au group diabétiques seules.

Tableau2 : Concentration des paramètres biochimique chez le témoin et les groupes malades

Groupe	Glycémie (g/l)	Albumine (g/l)	Créatinine (mg/l)	Urée (g/l)	Fer (mg/l)	Acide urique (g/l)
Témoins	1,02±0,05	42,23±0,78	8,51±0,73	0,38±0,02	0,83±0,07	64,28±3,44
Diabétiques	1,98±0,23**	44,67±0,87*	9,22±0,43	0,36±0,03	0,51±0,04***	43,21±3,79***
Diabétique-Néphropathie	1,69±0,15**	50,23±4,73*	93,07±8,65***c	1,02±0,06***c	1,19±0,16 ^{ab}	58,46±2,89 ^c

Les résultats sont présentés sous forme Moy±ES, (n=15). Comparaison avec les témoins :

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Comparaison avec le groupe diabétique : ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$.

1.3. Les électrolytes

les résultats obtenus (tableau3) montrent une augmentation significative ($P < 0.05$) de la concentration de potassium sérique dans les groupes diabétique et diabétiques néphrotique par rapport au groupe témoin et aussi on observe une diminution hautement significatif ($P < 0.01$) de la concentration de sodium sérique dans le groupe des patients diabétiques et diabétiques néphropathie par rapport au groupe témoin mais pas de variation significatif avec autre comparaison.

Tableau3 : Concentration des électrolytes chez le groupe témoin et les groupes malades

Groupe	Potassium (meq/l)	Sodium (meq/l)
Témoins	4,10±0,02	140.06±0.55
Diabétiques	4.17±0.09	136.77±0.50***
Diabétique-Néphropathie	5.30±0.361**	134.54±1.52**

Les résultats sont présentés sous forme Moy±ES, (n=15). Comparaison avec les témoins :

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

1.4.Paramètres hématologiques:

Selon nos résultats illustrés dans le (tableau4), que montrent qu'il n'y a pas une variation significative ($P > 0.05$) du nombre des globules rouge, globule blancs, hématocrite et les plaquettes de sang chez les patients diabétiques par rapport aux témoins.et une diminution significative ($P < 0.05$)de ces paramètres chez le group diabétique néphropathiques par rapport au témoin.Par contre on observe une diminution significatif de nombre des globules rouge, globule blancs, hémoglobine et hématocrite et une augmentation significatif ($P < 0.05$) des plaquettes de sang chez le group des patients diabétiques néphropathie par rapport au group diabétiques.

Tableau4: Taux des paramètres hématologiques chez le groupe témoin et les groupes malades

Groupe	Globule Blanc (mm ³)	Globule Rouge (mm ³)	Hémoglobine (g/dl)	Hématocrite (%)	Plaquete (mm ³)
Témoins	8,16±0,56	4,85±0,06	13.87±0,29	39,18±0,81	243,7±15,8
Diabétiques	8.93±0.77	4,43±0,21	12.42±0.56 [*]	37.14±1.81	135,9±22,7 [*]
Diabétique Néphropathie	6.61±0.41 ^{**c}	2,80±0,17 ^{***c}	8.95±0.45 ^{***c}	26.13±1.53 ^{***c}	227,9±31,8 ^a

Les résultats sont présentés sous forme Moy±ES, (n=15). Comparaison avec les témoins : * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001. Comparaison avec le groupe diabétique : ^a P < 0.05, ^b P < 0.01, ^c P < 0.001.

1.5. Paramètres du stress oxydatif

Les résultats (tableau5) révèlent qu'il y a une augmentation significative de taux de MDA, glutathion réduit (GSH), vitamine c (P < 0.05) et une diminution significatif (P < 0.05)de la concentration de thiol total chez le group diabétiqueet diabétiques néphropathie contre le témoin. Par contre seul le taux de GSH est augmentée (P < 0.001) dans le groupe des patients diabétiques néphropathie par rapport au group diabétiques seules.et pas de variation significatif pour les restes des paramètres.

Tableau5 : Concentration de marqueurs de stress oxydatif sérique chez le témoin et les groupes malades

Groupe	MDA (μmol/ mg Hb)	GSH (mmol/ mg Hb)	Vit C (mmol/l)	ORAC (UI)	Thiol (mol/l)
Témoins	13,18±1,48	1,27±0,06	0,85±0,08	1.06±0.0109	1.41±0.41
Diabétiques	16,10±1,53 [*]	1,79±0,11 ^{***}	1,31±0,16 [*]	1,003±0,06	0.26±0.30 ^{***}
Diabétique-Néphropathie	23,64±3,39 [*]	2,59±0,15 ^{***c}	1,86±0,37 [*]	0,99±0,03	0.86±0.61 [*]

Les résultats sont présentés sous forme Moy±ES, (n=15). Comparaison avec les témoins : * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001. Comparaison avec le groupe diabétique : ^a P < 0.05, ^b P < 0.01, ^c P < 0.001.

1.6. Analyse de ROC des marqueurs de stress oxydatif

1.6.1. Chez les diabétiques :

Notre résultat (tableau6 et figure1) révèlent que le thiol dans le sérum étaient un facteur prédictif significatif ($P < 0,05$) avec un pourcentage élevé de spécificité (100%) , un pourcentage élevé de Sensibilité (25%) et une valeur ZSC(0,056).

	Sensibilité %	Spécificité %	ZSC	ES	P	IC 95%	
						Limite inférieure	Limite supérieure
GSH	50	33,3	0,583	0,182	0,643	0,226	0,940
Vitamine C	0,00	11,1	0,625	0,181	0,478	0,669	0,981
Thiol	25	100	0,056	0,066	0,014	0,000	0,181

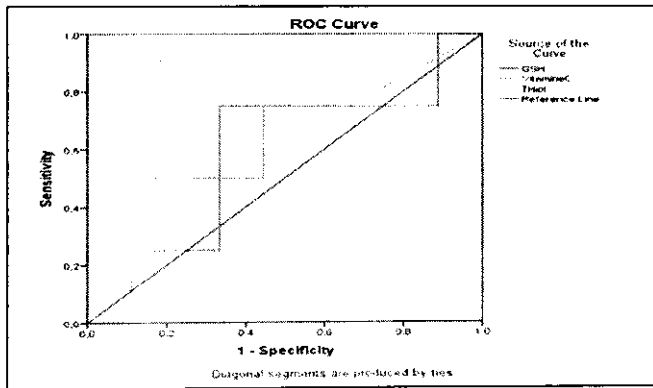


Figure1: Courbe ROC de GSH, Thiol et Vit C chez les diabétiques

1.6.2. Chez les diabétiques néphropathie

Notre résultat révèlent que le MDA et GSH dans le serum étaient des facteur prédictifs significatifs ($P < 0,05$) avec des pourcentages de spécificité (18.2 et 0.00%) , des pourcentages élevés de Sensibilité (36,4 et 72,2 %) et des valeurs ZSC(0,092 et 0,104) respectivement (tableau7 et figure2).

	Sensibilité%	Spécificité%	ZSC	ES	P	IC 95%	
						Limite inférieure	Limite supérieure
MDA	36,4	100	0,814	0,092	0,013	0,633	0,995
GSH	72,7	18,2	0,822	0,104	0,010	0,619	1,000
Vitamine C	45,5	0,00	0,731	0,116	0,066	0,505	0,958

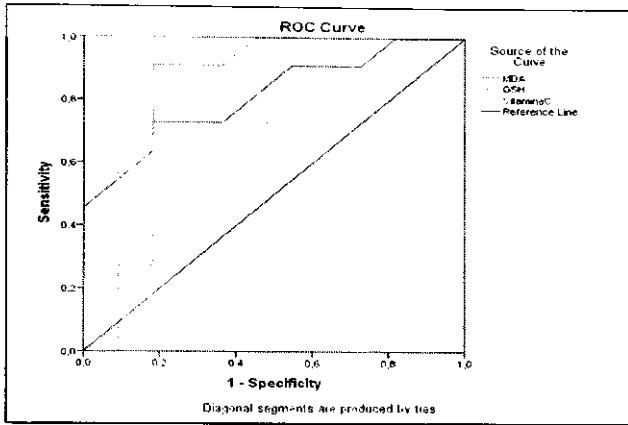


Figure2: Courbe ROC de MDA, GSH et Vit C chez les diabétiques néphropathie

1.7. Corrélation entre les paramètres

Les résultats obtenus (figure 03 et 04) montrent qu'il n'ya aucune corrélation significative entre la variation des marqueur de stress oxydant (GSH et MDA) et les marqueur de la fonction rénale (urée, créatinine et acide urique)

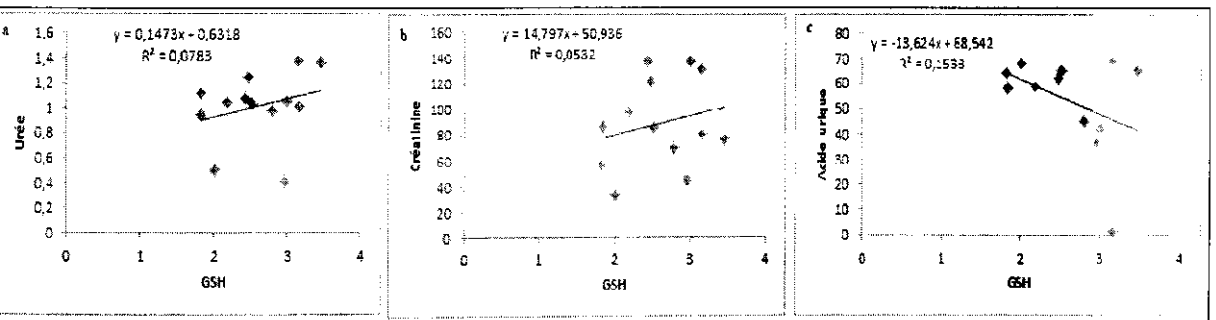


Figure 03: Corrélation entre la variation de GSH et les marqueurs rénales chez des patients diabétique avec néphropathie

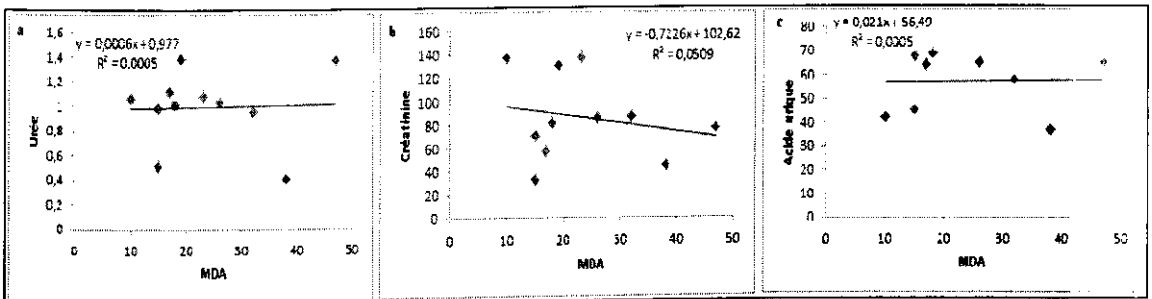


Figure 04: Corrélation entre la variation de MDA et les marqueurs rénales chez des patients diabétique avec néphropathie

Discussion

2. Discussion

Notre étude a porté sur des sujets hospitalisés au niveau du service de diabétologie et du service d'Insuffisance Rénale de EPH Touggourt. Ces sujets sont des diabétiques soit sans complication rénale ou ils représentent une néphropathie diabétique comme complications avec différent degré de sévérité. Les patients sont répartis selon leur degré de l'atteinte rénale due aux complications du diabète.

2.1. L'Hypertension Artérielle (HTA)

Au cours de la description de population diabétique étudiée et utilisée dans cette étude on observe une association entre cette maladie avec l'hypertension artérielle. La liaison entre l'hypertension et les complications du diabète est bien démontrée. Cette atteinte vasculaire est en outre, en rapport avec plusieurs facteurs : l'excès du poids, l'hyperinsulinisme, l'insulino-résistance avec activation du système rénine angiotensine, la rétention hydro-sodée et les lésions endothéliales de la micro-circulation (Krzyszowski et Weekers, 2005 ; Wright et Hutchison, 2009) ainsi que l'existence d'une néphropathie diabétique (Krzyszowski et Weekers, 2005). Concernant l'indice de masse corporelle, plusieurs études ont rapporté une forte association entre un excès de poids et un risque accru de décès, plaçant le groupe en surpoids à 40% plus élevé et le groupe obèse à un risque de décès jusqu'à 300% plus élevé que les individus dont l'IMC est normal ($18,5 \leq \text{IMC} < 25$). L'excès de poids et l'inactivité physique sont également associés à un risque accru de développer diverses maladies, en particulier le diabète de type 2 (Gray et al., 2015). Étant donné que l'excès de poids est un prédicteur important du diabète de type 2, le terme «diabésité» a été proposé par Astrup et Finer, (2000). Plus précisément, par rapport aux femmes dont l'IMC est normal, en surpoids, obèses de classe I et II ($30 \leq \text{IMC} < 39,99$) et de classe III ($\text{IMC} \geq 40$), les personnes sont exposées à des risques accrus de développer une DM de type 2.

2.2. Glycémie et paramètres biochimiques

Les résultats obtenus montrent que la glycémie est augmentée chez le groupe diabétique et diabétique néphropathie par rapport au témoin ce qui confirme que la glycémie reste le marqueur le plus important pour le diagnostic de diabète ou le contrôle et suivi le développement ou la complication néphrotique de la maladie. Plusieurs travaux chez des patients ont le diabète de type 1 que de type 2, ont montré que l'hyperglycémie jouait un rôle causal dans la physiopathologie des étapes initiales de la néphropathie diabétique (Roussel, 2011). D'autre part notre résultats montre une augmentation des paramètres de la fonction

rénale (urée, créatinine, acide urique et albumine) chez le group diabétique néphropathie contre le group des diabétique. La créatinine est considérée parmi les marqueurs les plus important de dysfonction rénale et la filtration glomérulaire (Tsinalis et Binet, 2006). Plusieurs travaux montraient clairement que le taux de la créatinine sanguine augmente dès le stade précoce de la néphropathie diabétique (Bouattar et al., 2009 ; Lasaridis et Sarafidis, 2005). Concernant la concentration de l'urée, Il est évident qu'une augmentation de l'urée sanguine traduit un déficit de la fonction d'excrétion des reins (Richet, 2005). l'urée s'accumule dans le sang et devient un facteur toxique ce qui traduit par une altération de la fonction rénale (Vanholder, 2003) du fait que l'insuffisance rénale par acidose métabolique qu'elle induit, est responsable d'un catabolisme musculaire exagéré (Mitch et al. 1994). le dosage de l'urée sanguine est moins précis pour évaluer la fonction rénale que celui de la créatinine et doit donc être abandonné (Dussol, 2011). Mais pour l'augmentation de l'uricémie qui est expliquée par la progression linéaire de l'insuffisance de la fonction rénale et de l'incapacité d'éliminer les déchets issus du catabolisme. L'hyper uricémie est considérée comme un marqueur de dysfonctionnement rénal plutôt qu'un facteur de risque de progression de l'atteinte rénale (Kang et al., 2002).Autrement, le taux élevé de l'acide urique circulant, peut être interprété lors d'une lésion cellulaire, une dégradation rapide des acides nucléiques libérant en grande quantité des purines qui seront par la suite transformées en acide urique est observée (Chebbabi R., 2012).L'acide urique est le produit final du métabolisme des purines chez l'homme, elle joue un double rôle, à la fois comme un pro-oxydant et thérapeutique comme un antioxydant (SHABANA et al., 2012).Concernant l'albumine qui est un marqueur de fonction rénale. La modification de la filtration glomérulaire entraîne une excrétion urinaire d'albumine, qui témoigne une atteinte rénale (Fauvel et lavill, 2006). Par ailleurs, les résultats obtenus montrent une perturbation de métabolisme des electrolytes chez les patients diabétiques et diabétiques néphropatique par rapport aux témoins. L'hyponatrémie est souvent associée à l'IRC (Diallo A, Adam A.) , a rapporté une hyponatrémie dans 33% des cas. (Serme A, Lengani A. Ilboudo P, Sawadogo N, Sombie R) , par contre, a rapporté une fréquence d'hyponatrémie plus faible : environ de 5% des cas modérés et 10%des cas sévères Celle-ci pourrait être due au fait que les malades sont sous traitement intensif. Nos résultats sont identiques avec ceux attendus en cas d'insuffisance rénale, car il est admis que le bilan potassique est équilibré jusqu'au stade tardif de l'insuffisance rénale chronique, ce phénomène est due au déficit de l'excrétion rénale du potassium, par dépassement des mécanismes d'adaptation. Ainsi beaucoup d'arguments expérimentaux indiquent que l'hyperkaliémie est la complication la plus redoutable des

traitements par les bloqueurs du système rénine angiotensine, qui incite à redoubler de vigilance dans l'emploi des néphroprotecteurs et les mesures diététiques et thérapeutiques adéquates (Hannedouche T, Krummel T, Parvez-Braun L.).

2.3. Paramètres hématologiques

Concernant les résultats de l'étude hématologique nos résultats ont montré une diminution de taux d'HB et globule rouge chez les patients néphropathie diabétique contre le témoin. Les environnements hyperglycémiques chez les diabétiques sont à la base de beaucoup des conséquences dont les altérations de la structure, de la forme et de la fonction des globules rouges (Kundu D et al 2014), Hosseini et al. (2014) ont montré que l'hyperglycémie augmente le niveau de sorbitol dans les globules rouges, ce qui nuit à la pompe $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{-ATPase}$, et par conséquent un déséquilibre osmotique s'installe et conduit à la mort cellulaire (He B.B., et al 2015). L'anémie dans l'insuffisance rénale chronique agit comme une complication et un facteur de risque. La présence du diabète aggrave encore le risque et le développement de la maladie. L'association de diabète, IRC et anémie entraîne un élèvement de risque d'atteinte de CV chez les patients. L'anémie dans DKD est donc de plus en plus reconnue comme facteur de risque de Maladie Cardiovasculaire, qui est en soi la principale cause de morbidité et de mortalité dans cette cohorte (Bajaj et al., 2016). Toutes ces combinaisons suggèrent clairement que l'anémie peut être centrale dans la relation vicieuse de DKD, d'anémie et de CVD, et joue un rôle clé dans la modulation du profil de mortalité des patients DKD. Elle est généralement plus sévère et survient à un stade plus précoce de l'insuffisance rénale dans le DKD et est associée à un risque accru de CV, d'accidents vasculaires cérébraux (AVC) et de complications rénales qui à son tour entraîne une hospitalisation accrue, une durée d'hospitalisation accrue et une mortalité toutes causes accrue (Mehdi & Toto, 2009; Ritz & Haxsen, 2005). Par ailleurs, l'augmentation de la concentration de fer chez le group des patient diabétiques néphropathie est peut expliquer par l'anémie hémolytique associée à la maladie ce qui perturber l'homéostasie de fer dans l'organisme. L'homéostasie du fer repose sur son stockage et son recyclage à travers des macrophages tissulaires, qui contiennent le plus grand pool de fer [dérivé de la phagocytose des globules rouges sénescents et du catabolisme subséquent de l'hémoglobine (Hb) et de l'hème]. Un tel recyclage fournit l'essentiel des besoins quotidiens en fer (20 à 30 mg). Cependant, l'intestin participe également à l'homéostasie du fer en fournissant 1 à 2 mg de fer par jour, ce qui correspond à la perte quotidienne de métal. Le principal régulateur de l'homéostasie du fer est l'hepcidine, qui est directement régulée à la baisse par l'activité stimulée de l'érythropoïèse (Millot et al., 2017). En effet, l'expression de l'hepcidine a été réduite et a entraîné une

augmentation de l'absorption intestinale du fer. De plus, la ferroportine, qui exporte le fer des tissus vers le plasma, a été fortement induite chez les souris CFP, ce qui suggère que les réserves de fer tissulaire peuvent être efficacement mobilisées. La saturation de la transferrine est toujours dans la plage normale, ce qui suggère qu'une augmentation de l'absorption intestinale du fer et du recyclage des macrophages en fer-hème sont suffisants pour compenser les pertes urinaires en fer. Nous avons également montré que Fam 132b (ERFE), un facteur produit par le développement d'érythroblastes et impliqué dans la répression du gène *Hamp3*, était fortement régulé à la hausse dans la moelle osseuse et la rate érythropoïétique dans des conditions d'hémolyse chronique et est susceptible de contribuer à la répression de l'hepcidine et à l'augmentation de fer sérique (Kautz et al., 2014). Pour le nombre de leucocytes, des variations des taux des globules blancs, et donc de toute la formule leucocytaire ont été manifestes chez nos patients. En effet, nous pensons que le faible taux des globules blancs pourrait signifier qu'il y a baissé de défense du système immunitaire, tout comme ça pourrait être du à la présence des organismes étrangers (Ghosh D., et al 2002, Dworacka M., et al 2007). La chimiotaxie altérée et la phagocytose des monocytes des patients diabétiques ont été décrites. Étant donné que le plasma provenant de témoins sains n'entraîne aucun changement significatif dans la capacité phagocytotique des monocytes diabétiques, il semble que cette fonction altérée soit causée par un défaut intrinsèque dans les monocytes eux-mêmes. Il a été suggéré que la réponse faible de système immunitaire est probablement en partie le résultat de la fonction des macrophages animés dans ce groupe de patients. En combinaison avec la production décroissante de cytokines pro-inflammatoire après stimulation LPS chez les patients avec diabète de type 1, il semble que les fonctions monocytes / macrophages sont appariées chez les patients atteints de DM de type 1. Le mécanisme pathogène reste incertain. (Geerlings & Hoepelman, 1999; Nathella & Babu, 2017).

2.4. Paramètre de stress oxydatif

Le résultats de notre étude montre un état de stress oxydatif associé au diabète et ses complications néphrotiques avec une grande spécificité pour MDA et GSH pour la prédictivité de diabète et diabète néphropathie. L'hyperglycémie associée au diabète est un facteur limitant pour le stress oxydatif. Dans le diabète, lorsque le taux de glucose augmente, l'hexokinase est alors saturée et le glucose en excès est en partie métabolisé par la voie des polyols dans les tissus insulino-indépendants. L'aldose réductase, réduit le glucose en sorbitol en utilisant comme cofacteur le NADPH, H^+ provenant de la voie des pentose-phosphates et qui sera oxydée en $NADP^+$. L'expression de cette enzyme semble augmentée dans le diabète (Yabe-Nishimura, 1998). Puis le sorbitol déshydrogénase oxyde une partie du sorbitol formé

enfructose en utilisant comme cofacteur NAD^+ . L'activation de la voie des polyols induit également une altération du potentiel redox des cellules. La formation du sorbitol s'accompagne d'une baisse des ressources en NADPH au détriment d'autres réactions qui nécessitent également ce cofacteur. Parmi lequel la glutathion réductase requiert des niveaux élevés de NADPH pour réduire le glutathion oxydé (GSSG) et restaurer ainsi les niveaux endogènes du glutathion réduit (GSH). La diminution en NADPH entrave le cycle redox de régénération de GSH et aboutit ainsi à la génération du stress oxydant dans de nombreux tissus et contribuer ainsi à la pathogenèse des complications diabétiques (**Bravi M.C. et al., 1997**). D'autre part, les radicaux libres et le stress oxydatif peuvent jouer un rôle important, rôle dans la pathogenèse du diabète, car le déséquilibre par élévations de la production de radicaux libres. Dans notre résultat on a signalé une augmentation de l'activité de la GSH dans le serum des patients diabétiques. On peut expliquer cette augmentation probablement par l'effet de ce derniers comme une protecteur de ces cellule contre le stress oxydatif qui induit par l'hyperglycémie (**Tanaka Y. et al., 2002**). Le malondialdéhyde (MDA) est un acteur majeur de faible densité lipoprotéine (LDL) (VIDYA et al., 2011). C'est un produit secondaire bien connus de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène générées par certains contaminants, peuvent être utilisés comme le plus importants marqueurs du stress oxydatif (NAKHJAVANI et al., 2010). Ce résultat concernant la concentration de l'MDA peut être due au diabète équilibré par l'utilisation des médicament antidiabétique oraux comme (diabamine, diabénil, diaphage, formentin, ator) ces médicament contient l'élément de magnésium qui inhibe la formation de MDA dans les cellules endothéliales et pas $[\text{Mg}^{+2}]$ (O-) induit par la peroxydation lipidique (FARVID et al., 2005). Notre résultats montrent que le thiol totale est diminué chez les groupes diabétiques et diabétiques néphropathique contre le témoin ce qui refléter l'activité antioxydant de thiol. Parmi les acides aminés naturels uniquement les cystéines contenant le thiol dans leur chaîne latérale, qui peut subir une variété de réactions nucléophiles différentes. Le groupe sulfhydryle fait des cystéines un choix populaire pour les sites actifs dans les enzymes, les sites de fixation pour les marqueurs de prénylation et de palmitoylation, ainsi que les sites de liaison à haute affinité des métaux, tels que le zinc ou le fer (Poole, 2015+). Cependant, la caractéristique la plus déterminante des cystéine thiols est leur capacité à subir des réactions d'oxydation réversibles et irréversibles. La déprotonation du groupe sulfhydryle en l'anion thiolate correspondant augmente sa réactivité dans les réactions nucléophiles (Ulrich & Jakob, 2019). Notre résultats montrent que la vitamine c est augmenté dans les deux groupes diabétiques contre le témoin. La vitamine C (acide ascorbique) est un nutriment

requis pour diverses fonctions biologiques. L'être humain et quelques autres animaux dépendent du régime alimentaire comme source de vitamine C pour prévenir la maladie de carence en vitamine C, le scorbut et pour maintenir la santé générale (Padayatty et al., 2003). Les effets bénéfiques pour la santé de la vitamine C peuvent être attribués à ses fonctions biologiques en tant que cofacteur pour un certain nombre d'enzymes, notamment les hydroxylases impliquées dans la synthèse du collagène et en tant qu'antioxydant soluble dans l'eau. La vitamine C peut également fonctionner en tant que source de la molécule de signalisation, le peroxyde d'hydrogène, et en tant que donneur Michael pour former des adduits covalents avec des électrophiles endogènes dans les plantes. (Traber & Stevens, 2011). L'effet antioxydant de la vitamine C a été bien documenté. La vitamine C est un puissant antioxydant capable de donner un atome d'hydrogène et de former un radical sans ascorbyle relativement stable. La vitamine E, la vitamine C et le β -carotène sont connues comme des vitamines antioxydantes qui sont suggérées pour diminuer les dommages oxydatifs et réduire le risque de certaines maladies chroniques comme le diabète (Ahmed et al., 2011). La vitamine C est un puissant agent réducteur et piègeur de radicaux libres dans les systèmes biologiques. Il participe à la première ligne de défense antioxydante, protégeant les membranes lipidiques et les protéines des dommages oxydatifs (Tessier et al., 2009). En tant que molécule soluble dans l'eau, la vitamine C peut agir à l'intérieur et à l'extérieur des cellules, et peut neutraliser les radicaux libres et prévenir les dommages des radicaux libres. La vitamine C est une excellente source d'électrons pour les radicaux libres qui recherchent un électron pour retrouver leur stabilité. La vitamine C peut donner des électrons aux radicaux libres et éteindre leur réactivité (Odigie et al., 2007)

Conclusion

Conclusion

Le diabète est une pathologie grave qui est étroitement liée à un éventuel développement d'un statut oxydant. Ce concept de « stress oxydant » décrit une situation dans laquelle la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation très impliquée dans le développement des différentes complications liées à cette maladie.

L'étude des paramètres associés aux complications liées au diabète, notamment l'atteinte rénale par une néphropathie diabétique est une étude très vaste et multifactorielle. Plusieurs facteurs interviennent dans la progression de cette pathologie qui représente la première cause de l'insuffisance rénale terminale dans le monde.

Le but de ce travail était de chercher un statut oxydatif de sujets récemment devenus néphropathie par l'exploration du bilan biochimie, hématologie et la mesure des marqueurs oxydants et antioxydants.

Les résultats obtenus à travers notre étude, ont montré clairement que le diabète est confirmé par l'hyperglycémie observé chez tous les patients diabétiques. et la créatininémie qui est souvent utilisée comme biomarqueur de dysfonctionnement rénale dans le milieu hospitalier algérien, est un test simple et efficace mais il doit être associé à d'autres tests biologiques classiques tels que les dosages d'urée et d'ionogramme sanguin.

Nos résultats montrent aussi une augmentation de la concentration de l'urée, créatinine, l'acide urique, potassium et albumine sériques chez les patients diabétiques par rapport aux témoins et chez les patients diabétiques néphropathie par rapport au aux diabétiques seules ce qui confirme la complication néphropathie de diabétiques.

Par contre et d'après nos résultats on a observé une diminution significative de taux d'hémoglobine, globules rouges, globule blanc, hémocrite et une augmentation significative ($P < 0,05$) des plaquettes et fer sérique chez le groupe diabétiques avec complications néphrotiques contre le groupe des diabétiques seules ce qui reflète sur l'atteinte inflammatoire et animé associé à la complication néphrotique de diabète.

D'autre part, nos résultats ont montré que une augmentation de MDA, GSH, Vit C et une diminution de thiol total dans le sérum des patients diabétique avec et sans complication par rapport aux témoins ce qui montre l'état de stress oxydatif associé au diabète et qui est responsable de la complication rénale.

Analyse de test ROC a montré que le thiol, GSH et MDA sérique ont haute spécificité (100%) chez les malades avec diabète néphrotique ce qui peuvent être devenue des marqueurs prédictive ce cette maladie.

Cette étude reste préliminaire et superficielle, elle nécessite d'autres études approfondies. Dans ce contexte, et comme perspectives de notre travail, il serait intéressant de poursuivre la recherche sur un modèle animal afin de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces événements qui conduisent à la néphropathie.

Références bibliographique

Références bibliographique

1. Adler A., Stevens R.J., Mawley S.E et al. (2003): Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes. The United Kingdom prospective diabetes study. UKPDS. *Kidney Int.*, 63: 225.
2. Adler A., Stevens R.J., Mawley S.E et al. (2003):Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes. The United Kingdom prospective diabetes study. UKPDS. *Kidney Int.*, 63: 225.
3. Ahmed EA, Omar HM, elghaffarSKh, Ragb SM, Nasser AY. The antioxidant activity of vitamin C, DPPD and L-cysteine against Cisplatin-induced testicular oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(5):1115-1121. doi:10.1016/j.fct.2011.02.002
4. Amorim, R. G., Guedes, G., Vasconcelos, S., & Santos, J. (2019). Kidney Disease in Diabetes Mellitus: Cross-Linking between Hyperglycemia, Redox Imbalance and Inflammation. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 112(5), 577–58
5. Araujo, M., & Wilcox, C. S. (2014). Oxidative stress in hypertension: role of the kidney. *Antioxidants & redox signaling*, 20(1), 74–101.
6. Astrup A, Finer N. (2000). Redefining type 2 diabetes: 'Diabesity' or 'obesity dependent diabetes mellitus'? *Obes Rev.*;1:57–59.
7. Bajaj, S., Makkar, B. M., Abichandani, V. K., Talwalkar, P. G., Saboo, B., Srikanta, S. S., Das, A., Chandrasekaran, S., Krishnan, P. V., Shah, A., Abraham, G., Tikku, P., & Kumar, S. (2016). Management of anemia in patients with diabetic kidney disease: A consensus statement. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 20(2), 268–281.
8. Bakker A.J. (1999): Detection of microalbuminuria. Receiver operating characteristics curve analysis favors albumin-to-creatinine ratio over albumin concentration. *Diabetes Care* ;22:307-13.
9. Bakker A.J. (1999): Detection of microalbuminuria. Receiver operating characteristics curve analysis favors albumin-to-creatinine ratio over albumin concentration. *Diabetes Care* ;22:307 13.
10. Baud L, Ardaillou R. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br Med Bull.* 1993;49(3):621-629.

11. Beaudoux JL and Dominique BR. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. Internationales. P : 550.
12. BEGUIN Y., 2002- Le métabolisme du fer. *Hématologie*. vol. 8(7-11) : 7-11.
13. Berger M., Mönks D., Wanner C. et al., (2003): Diabetic nephropathy: an inherited diseases or just a diabetic complications?. *Kidney blood Press Res.* 26: 143-154.
14. Bîcu M, Moța M, Panduru NM, Grăunțeanu C, Moța E. Oxidative stress in diabetic kidney disease. *Rom J Intern Med.* 2010;48(4):307-312.
15. Birben, E., Sahinerm U.M., Sackesenm C., Erzurum, S. et Kalayci, O. (2013). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *WAO Journal*, 5,9-19. En ligne: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3488923/pdf/waoj-5-9.pdf>.
16. Bouattar T, Ahid S, Benasila S, Mattous M, Rhou H, Ouzeddoun N, et al. Les facteurs de progression de la néphropathie diabétique: prise en charge et évolution. *Néphrologie & thérapeutique.* 2009;5(3):181-7.
17. Bravi M.C., Pictrangeli P., Laurenti O., Basili S., CassoneFaldetta M., Ferri C et De Matti G. (1997). Polyol pathway activation and glutathione redox status in non-insulindependent diabetic patients. *Metabolism*. Vol. 46 (10): 1194-1198. Cité par Bouldjadj R. (2009).
18. Brownlee M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetes complications. *Nature*, 414: 813-20.
19. Buleon M. (2008): Physiologie rénale du récepteur B2 de la Bradykinine : de la néphropathie diabétique au choc septique. Thèse de Doctorat en physiologie expérimentale. Université Toulouse III .Paul Sabatier France.
20. Busch B.M.S., Pignet M. (2001):Le diabète de type 2. *Médecine Nucléaire. Imagerie fonctionnelle et métabolique.* Vol.25.(2):103- 14.
21. Buyssechaert M., (2002). *Diabétologie clinique* Edition .De Boeck Et Larcier. Paris.
22. Canivell, S., & Gomis, R. (2014). Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. *Autoimmunity Reviews*. vol 149 (153): 405p.

23. Carrière, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M.C., Pénicaud, L. et Casteilla, L. (2006). Les espèces actives de l'oxygène: le yin et le yang de la mitochondrie. *Médecine sciences*, 22(1), 47-53. En ligne: <http://www.erudit.org/revue/ms/2006/v22/n1/012231ar.pdf>
24. Cash, T.P., Pan Y. et Simon C.M. (2007). Reactive Oxygen Species and Cellular Oxygen Sensing. *Free Radical Biology & Medicine*, 43(9), 1219-1225. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.07.001.
25. Charbonnel, B., Cariou, B. (1997). Diabète non insulino-dépendant: indications thérapeutiques. *Médecine Thérapeutique* 3: 103-111.
26. Cheng, A.Y.Y. Fantus, I. G. (2005). Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Canadian Medical Association* 172 (2): 213-226.
27. Chevenne D., Fonfrède M., (2004). Actualité sur les marqueurs biologiques du diabète. *Immunoanal. Biol. Spec.* 16. P 215-229.
28. Collart F., (2003). Insuffisance rénale, protéinurie et néphropathie diabétique. *Rev. Med. Brux.*, 4. P : 257-62.
29. Cooper M, Bonnet F, Olfield M. (2001). Mechanisms of diabetic vasculopathy: an overview. *Am J Hypertension*; 14: 475-86.
30. Cozma, L. S., Luzio, S.D., Dunseath, G.J., Langendorg, K .W., Pieber, T., Owens, D.R. (2002). Comparison of the effects of three insulinotropic drugs on plasma insulin levels after a standard meal. *Diabetes Care* 25 (8): 1271-1276
31. De Moffarts B., Kirschvink, N., Pincemail, J. et Lekeux P. (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Annales De Médecine Vétérinaire*, 149, 1-9. En ligne: http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2005_149_1_01.pdf
32. Deby-Dupont, G., Deby, C. et Lamy M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. *Réanimation*, 11, 28-39. En ligne: http://www.srlf.org/wp-content/uploads/2015/11/0201-Reanimation-Vol11-N1-p028_039.pdf.
33. Defraigne, J.O. et Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63(1), 10-19. En ligne: <https://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/20796/1/292.pdf>.

34. Delattre J. , Gardes M. , Jore D., 2001. Stress oxydant et diabète sucré, Journal de la Société de biologie, vol. 195, no4 : 375-376.
35. Delattre J., Beaudoux J.L. et Bonnefont-Rousselot D. (2005).Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Paris: Lavoisier
36. Densiov, E.T. et Afanas'ev,I.B. (2005).Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. (U.S.A): Taylor & Francis Group.
37. Derubertis FR and Craven Patricia A. (2005). Oxidative and glycoxidative stress in diabetic nephropathy. Ed: P.Cortes and C.E Magensen. Humana press Inc, Totawa N.J.
38. Diabète de type 2 chez l'enfant : une émergence parallèle à celle de l'obésité Congrès Hebdo Le Quotidien du médecin n°7817 Octobre 2005.
39. Diallo A, Adam A. Les néphropathies chroniques hypertensives en Côte-d'ivoire Etude de 311 cas observés en milieu hospitalier à Abidjan. Médecine d'Afrique Noire. 1998;45(10):4.
40. Dubois LD., (2010). Progrès physiopathologiques dans le diabète de type1. Revue du praticien. Vol.60. P : 165-69.
41. Duni, A., Liakopoulos, V., Roumeliotis, S., Peschos, D., & Dounousi, E. (2019). Oxidative Stress in the Pathogenesis and Evolution of Chronic Kidney Disease: Untangling Ariadne's Thread. International journal of molecular sciences, 20(15), 3711.
42. Dussol B. (2011) : Différents stades de l'insuffisance rénale chronique, recommandations. Immunoanalyse et biologie spécialisée .26 : 55-59.
43. Dworacka M., Winiarska H., Borowska M., Abramczyk M., Kozłowska T.B., Dworacki G. Pro-Atherogenic alterations in T lymphocyte subpopulations related to acute hyperglycaemia in type 2 diabetic patients. *Curr J.* 2007; 71(11):962-967.
44. Ece, A., Gürkan, F., Celik, F., Boşnak, M., Yel, S., Balik, H. et Erel, O. (2007).Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clinical Biochemistry*, 40(9-10), 634-9. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2007.03.001.
45. Farvid MS., Jalali M., Siassi F., Hosseini M., 2005- Comparison of the effects of vitamins and/or mineral supplementation on glomerular and tubular dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 28:2458–2464.

46. Fauvel J-P, Laville M. Protéinurie. *Néphrologie & thérapeutique*. 2006;2(1):32-40.
47. Favier, A. (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108 115. En ligne: <http://www.andrecontrelasla.be/IMG/pdf/Favier.pdf>
48. Finaud, J., Lac, G., Filaire, E. (2006). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports Medicine*, 36(4), 327-358. doi: 0112-1642/06/0004-0327/\$39.95/0.
49. Foret, R., Brack, M., Garrel, C. (2009). Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage. *Journées Recherche Porcine*, 41(1), 173-178. En ligne <http://journées-recherche-porcine.com/texte/2009/sante/s02.pdf>.
50. Gardès-Alber, t M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z. et Jore D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. *L'actualité chimique*, 91-96. En ligne: http://www.helioexplongee.fr/cariboost_files/Radicaux_20Libres.pdf
51. Geerlings SE, Hoepelman AI. Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1999;26(3-4):259-265.
52. Geoffroy K., (2005). Rôle des sphingolipides dans la modification de la prolifération des cellules mésangiales rénales en réponse au produit avancé de glycation (AGE) : implication dans le développement de la néphropathie diabétique. Thèse Doctorat en biochimie, Université Paris VII. Denis Didero. P: 31-97.
53. Ghosh D., Bhattacharya B., Mukherjee B., Manna B., Sinha M., Chowdhury J., Chowdhury S. Role of chromium supplementation in Indians with type 2 diabetes mellitus. *J Nutr Biochem*. 2002 Nov; 13(11):690-697.
54. Gin, H., Rigalleau, V. (1999). Diabétiques et diabète. *EMC- Endocrinology Nutrition* 10-366-R.10: 6.
55. Girard J., (2003). Rôle des acides gras libres dans la sécrétion et l'action d'insuline Mécanisme de lipotoxicité. *M/S* .vol 19 n°8-9, P: 827-833.
56. Gourdi P. (2011): Diabète de type 2 et insuffisance rénale: une situation à haut risque cardiovasculaire. *Médecine des maladies métaboliques* vol.05 suppl. 1: 31-37.

57. Gourdi P., Hanaire H., Mathis A., Martini J. (2008). Le diabète et ses complications. Diabétologie. Module 14. Decm.3. Faculté de Médecine Université Paul Sabatier. Toulouse France. www.medecine.ups-tlse.fr. Mars.2010
58. Gray, N., Picone, G., Sloan, F., &Yashkin, A. (2015). Relation between BMI and diabetes mellitus and its complications among US older adults. *Southern medical journal*, 108(1), 29–36.
59. Grimaldi A., (2000). Questions d'internat, Diabétologie. Faculté de médecine Pierre Marie Curie Paris. France. P: 15-19
60. Grimaldi, A. (2004). Diabète de type 2: Guide à l'usage des patients et de leur entourage. Bash, éditions médicales. p :199.
61. Gülçin, I., Huyutb, Z., Elmastaşç, M.Y. et Aboul-Enein, H. (2010).Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(1),43-53. doi:10.1016/j.arabjc.2009.12.008.
62. Haleng, J., Pincemail, J., Defraignem J.O. et Chapelle, J.P. (2007).Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*,62(10): 628-638. En ligne: <http://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/8914/1/Stress%20oxydant,%20RMLg,%202007.pdf>.
63. Hannedouche, T., Krummel, T., Parvez-Braun, L., 2005. Nephroprotection : how to slow the progression of chronic renal insufficiency ? *Nephrol. Ther.* 1 (2), 135–144.
64. Hanukoglu, I. (2006).Antioxidant protective mechanisms against reactive oxygen species (ros) generated by mitochondrial p450 systems in steroidogenic cells.*Drug Metabolism Reviews*, 38,171-196. doi: 10.1080/03602530600570040.
65. Harris WS, Park Y, Isley WL (2003). Cardiovascular disease and long-chain omega-3 fatty acids. *Curr Opin Lipidol.*, 14: 9-14. 96. Vanschoonbeek K, Feijge MA, Saris WH, de Maat MP, Heemskerk JW (2007). Plasma triacylglycerol and coagulation factor concentrations predict the anticoagulant effect of dietary fish oil in overweight subjects. *J Nutr.*137: 7-13.
66. Hasslett C., Edwin R., Boon N., Colledj N.R., Hunter J.A.A. (2005): Davidson, Médecine interne, principe et pratique, traduit de la 19e édition anglaise..Edition Maloine. ISBN.2- 224-02789-3. p: 578-682

67. He B.B., Xu M., Wei L., Gu Y.J., Han J.F., Liu Y.X., Bao Y.Q., Jia W.P. Relationship between anemia and chronic complications in Chinese patients with type 2 Diabetes Mellitus. *Arch Iran Med.* 2015; 18(5):277-283.
68. Henquin, J.C. (2005). Le traitement pharmacologique du diabète de type 2 : Mode d'action des médicaments d'aujourd'hui et demain. *Louvain Médical.* 124: 39-46.
69. Hosseini M.S., Rostami Z., Saadat A., Saadatmand S.M., Nacimi E. Anemia and Microvascular complications in patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Nephro Urol Mon.* 2014 july; 6(4): e19976.
70. International Diabètes Federation.(2006).The DiabètesAtlas. Third Edition.
71. Ishimoto, Y., Tanaka, T., Yoshida, Y., & Inagi, R. (2018). Physiological and pathophysiological role of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in the kidney. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 45(11), 1097–1105.
72. Jenkins AJ, Hill MA, Rowley KG. (2007). Diabetes and Oxidant Stress. *Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective.* Ed Holtzman J.L :123-160.
73. Jha, J. C., Banal, C., Chow, B. S., Cooper, M. E., & Jandeleit-Dahm, K. (2016). Diabetes and Kidney Disease: Role of Oxidative Stress. *Antioxidants & redox signaling*, 25(12), 657–684.
74. Jhonstone MT and Gelfand EN. (2005). Nitric oxide and its role in diabetes mellitus. Ed:M.T, Johnstone. Humana.Press. Inc Totowa NJ.
75. Jose, M., Mate, S., Cristina, P., Rcz-go, M. et Ignacio, N. (1999).Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8), 595–603. doi:10.1016/S0009-9120(99)00075-2
76. Kang D.H., Nakagawa T., Feng L., Watanabe S., Lin Han et al. (2002). A role for uric acid in the progression of renal disease. *J.Am. Soc. Nephrol.* 13 : 2888-97.
77. Kashihara N, Haruna Y, Kondeti VK, Kanwar YS. (2010). Oxidative stress in diabetic nephropathy. *Current medicinal chemistry*, 17(34), 4256–4269.
78. Kaushal, G. P., Chandrashekar, K., & Juncos, L. A. (2019). Molecular Interactions Between Reactive Oxygen Species and Autophagy in Kidney Disease. *International journal of molecular sciences*, 20(15), 3791.

79. Kautz L, Jung G, Valore EV, et al. (2014). Identification of erythropoietin as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet.*;46(7):678–684.
80. Kim J, Seok YM, Jung KJ, Park KM. Reactive oxygen species/oxidative stress contributes to progression of kidney fibrosis following transient ischemic injury in mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;297(2):F461-F470.
81. Kocchilin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*, 20, 165-177. doi: 10.1016/j.nupar.2006.10.178
82. Kumar Nathella, P., & Babu, S. (2017). Influence of diabetes mellitus on immunity to human tuberculosis. *Immunology*, 152(1), 13–24. <https://doi.org/10.1111/imm.12762>
83. Kundu D., Mandal T., Nandi M., Osta M., Bandyopadhyay U., Ray D. Oxidative stress in diabetic patients with retinopathy. *Ann Afr Med.* 2014 Jan-Mar; 13(1):41-6.
84. Lasaridis A.N., Sarafidis P.A.(2005):Néphropathie diabétique et traitement antihypertenseur: quelles sont les leçons des essais cliniques? *EMC- Néphrologie . 2:* 182-93.
85. Lehmann R., Erwin D., Schleicher R. (2000): Molecular mechanism of diabetic nephropathy. Review, *Clinica Acta.* 297 : 135-144.
86. Li, R., Jia, Z., & Trush, M. A. (2016). Defining ROS in Biology and Medicine. *Reactive oxygen species (Apex, N.C.)*, 1(1), 9–21.
87. Mahmoodnia, L., Aghadavod, E., Beigrezaei, S., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). An update on diabetic kidney disease, oxidative stress and antioxidant agents. *Journal of renal injury prevention*, 6(2), 153–157.
88. Mauer S.M. (1994):Structural functional correlations of diabetic nephropathy. *Kidney International.* Vol.45: 612-622.
89. McFarlane P., Sheldon T., Houlden R., Harris S.B. (2003): Néphropathie, Association Canadienne du diabète, Lignes directrices de pratique clinique. S73-S79.
90. McIsaac R., Jerums G. (2003): Gestion de la néphropathie diabétique. *Diabetes voice.* Vol.48:15-18.

91. Meagher E and rader DJ. (2001). Antioxidant therapy and Atherosclerosis: animal and human studies. *TCM*; 314 (9):162-165.
92. Mehdi, U., & Toto, R. D. (2009). Anemia, diabetes, and chronic kidney disease. *Diabetes care*, 32(7), 1320–1326.
93. Milkovic, L., Cipak Gasparovic, A., Cindric, M., Mouthuy, P. A., & Zarkovic, N. (2019). Short Overview of ROS as Cell Function Regulators and Their Implications in Therapy Concepts. *Cells*, 8(8), 793.
94. Millot, S., Delaby, C., Moulouel, B., Lefebvre, T., Pilard, N., Ducrot, N., Ged, C., Lettéron, P., de Franceschi, L., Deybach, J. C., Beaumont, C., Gouya, L., De Verneuil, H., Lyoumi, S., Puy, H., & Karim, Z. (2017). Hemolytic anemia repressed hepcidin level without hepatocyte iron overload: lesson from Günther disease model. *Haematologica*, 102(2), 260–270. <https://doi.org/10.3324/haematol.2016.151621>
95. Mitchell DA, et al. (1994) A polybasic domain allows nonprenylated Ras proteins to function in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 269(34):21540-6
96. MONNIER L. Néphropathie diabétique. In: DIABETOLOGIE. Elsevier Masson; 2014.
97. Morena M, Delbosc S, Dupuy AM, Canaud B, Cristol JP. Overproduction of reactive oxygen species in end-stage renal disease patients: a potential component of hemodialysis-associated inflammation. *Hemodial Int*. 2005;9(1):37-46.
98. Nabatieh, 2012, Les traitements innovants du diabète de type 1 : Focus sur la greffe des îlots de Langerhans, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier Faculté de Pharmacie de Grenoble; 20-30.
99. NAKHJAVANI M., ESTEGHAMATI A., NOWROOZI S., ASGARANI F., RASHIDI A., KHALILZADEH O., 2010- type 2 diabetes mellitus duration: an independent predictor of serum malondialdehyde levels. *Singapore Med J*. 51(7) : 582.
100. Nie J, Hou FF. Role of reactive oxygen species in the renal fibrosis. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125(14):2598-2602.
101. Odigie IP, Okpoko FB, Ojobo PD. Antioxidant Effects of Vitamins C and E on Phenylhydrazine-Induced Haemolysis in Sprague Dawley Rats: Evidence for A better Protection by Vitamin E. *Niger Postgrad Med J*. 2007;14(1):1-7.

- 102.** Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 2003;22(1):18-35. doi:10.1080/07315724.2003.10719272
- 103.** Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires.*, 27, 87-92. doi:10.1016/S0338-9898(95)80364-5.
- 104.** Pemble, S., Schroeder, K.R., Spencer, S.R., Meyer, D.J., Hallier, E, Bolt, H.M., Ketterer, B. et Taylor J.B. (1994). Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1): DNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochemical Journal*, 300(1), 271- 276. En ligne: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1138152/pdf/biochemj00087-0262.pdf>
- 105.** Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R. et Defraigne, J.O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4(5). En ligne: http://www.probiox.com/uk/pdf/realite_generaliste46.pdf
- 106.** Place du pharmacien d'officine dans les campagnes de dépistage du diabète de type 2 et dans l'éducation thérapeutique du patient diabétique. Jennifer LECAQUE. 2011. université henri poincaré – nancy i2011 faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques.
- 107.** Poole LB, The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry, *Free Radic. Biol. Med* 80 (2015) 148–157.
- 108.** Présentation d'une classe thérapeutique innovante dans le traitement du diabète de type 2 : les inhibiteurs de la dpp-4. racine geraldine. 2015. université toulouse iii paul sabatier faculté des sciences pharmaceutiques.
- 109.** Raccach D., (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie.* Elsevier SAS ; 1: 29-42.
- 110.** Ramache A. (2010): Néphropathie diabétique et microalbuminurie. Service néphrologie Lamine Debaghine. BEO. Alger. P02-52.
- 111.** Ratliff, B. B., Abdulmahdi, W., Pawar, R., & Wolin, M. S. (2016). Oxidant Mechanisms in Renal Injury and Disease. *Antioxidants & redox signaling*, 25(3), 119–146.
- 112.** Ray, P. D., Huang, B. W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling*, 24(5), 981–990.

113. Rees, J.F., Zalm F. et Thome, J.P. (2004). Enfer et paradis: la toxicité de l'oxygène chez les organismes abyssaux. *Océanis*, 30(3), 277-291
114. Références webographiques ADA: American Diabetes Association. www.diabetes.org. Mars. 2010
115. Richet G. Introduction du dosage de l'urée sanguine en pathologie rénale. *Néphrologie & Thérapeutique*. 2005;1(4):265-8.
116. Ritz E, Haxsen V. (2005). Diabetic nephropathy and anaemia. *Eur J Clin Invest.*;35 Suppl 3:66-74.
117. Rodier, M. (2001). Le diabète de type I. *Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique* 25 (2) : 95-101.
118. Roussel R. Histoire naturelle de la néphropathie diabétique. *Médecine des maladies métaboliques*. 2011;5:S8-S13.
119. Scheibmeir, H.D., Christensen, K., Whitaker, S.H., Jegaethesan, J., Clancy, R., Pierce, J.D., (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*, 21(1), 24-28. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.iccn.2004.07.007> Login 45.
45. Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, L., Had-Aissouni, L., (2005). Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations? Consequences for neuronal viability. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24, 502-509. doi: 10.1016/j.annfar.2005.03.004.
120. Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current biology : CB*, 24(10), R453-R462.
121. Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., et Cillard, J. (2001). Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie*, 49(9), 689-95. doi:10.1016/S0369-8114(01)00244-9.
122. Serme A, Lengani A, Ilboudo P, Sawadogo N, Sombie R. Les lésions endoscopiques digestives hautes dans l'insuffisance rénale chronique sévère en Afrique Noire. *Médecine d'Afrique noire*. 2003;50(1):31-6.
123. SHABANA S., SIREESHA M., SATYANARAYANA U., 2012- Uric acid in relation to type 2 diabetes mellitus associated with hypertension. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research (JCDR)*. Vol. 6(7) : 1140-1143.

124. Sherratt, P.J et Hayes J. (2001).Glutathione-S-transferases: Enzyme systems that Metabolise Drugs and Other Xenobiotics.Ioannides, C: Wiley & sons. doi:10.1002/0470846305.ch9
125. Sholit L., Suzanne M., Brenda B., Doris S., (2006). Sains infirmiers En Medecines Et En Chirurgie. P: 299-456.
126. Sorg, O. (2004).Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Biologies*, 30(3), 277-291. doi:10.1016/j.crv.2004.05.007
127. Stratton IM., Kohner EM., Aldington SJ., Turner RC., (2000). UKPDS 50 : Risk factors for incidence andprogression of retinopathy in type II diabetes over 6 years from diagnosis: *Diabetologia*, 44. P : 713-22.
128. Stratton IM., Kohner EM., Aldington SJ., Turner RC., (2000). UKPDS 50 : Risk factors for incidence andprogression of retinopathy in type II diabetes over 6 years from diagnosis: *Diabetologia*, 44. P : 713-22.
129. Tessier DM, Khalil A, Trottier L, Fülöp T. Effects of vitamin C supplementation on antioxidants and lipid peroxidation markers in elderly subjects with type 2 diabetes. *Arch GerontolGeriatr*. 2009;48(1):67-72.
130. Thorin-Trescases, N., Voghel, G., Farhat, N., Drouin, A., Gendron, M., et Thorin É. (2010).Âge et stress oxydant: Vers un déséquilibre irréversible de l'homéostasie endothéliale. *Med Sci*, 26(10), 875–880. doi:10.1051/medsci/20102610875.
131. Traber, M. G., & Stevens, J. F. (2011). Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free radical biology & medicine*, 51(5), 1000–1013. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.05.017>
132. Trivin. (1998) : Vers plus de diabétiques. *Annales biologic clinique*. Vol. 56(4). 385-86.
133. Tsinalis D., Binet I. (2006) : Appreciation de la fonction rénale : Créatinémie, Urée, et filtration glomérulaire. *Forum. Med. Suisse*. 6 : 414-19.
134. Ulrich, K., &Jakob, U. (2019). The role of thiols in antioxidant systems. *Free radical biology & medicine*, 140, 14–27.

135. Valéry, A., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P. et Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74(7),636-643. doi:10.1016/j.rhum.2006.12.009.
136. Vanholder R. (2003): Uremic toxins . *Nephrologie* : vol. 24 No. 07 : 373-76.
- 137.Vexiau P, 2006, prévenir les complications de diabète, assureurs prevention santé.
138. VIDYA D., SHEKHAR R., PRABODH S., 2011- Oxidative stress in diabetic retinopathy. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research*. Vol. 5(5) : 994-997.
139. Wassmann, S., Wassmann, K. et Nickenig, G. (2004).Modulation of Oxidant and Antioxidant Enzyme Expression and Function in Vascular Cells. *American Heart Association*, 44(4), 381-386. doi: 10.1161/01.HYP.0000142232.29764.a7.
140. Watkins PJ.(2003).Cardiovascular disease, hypertension and lipids. *Br Med J*; 326: 874-6.
141. Waxman, D.J. (1990).Glutathione 5-Transferases: Role in Alkylating Agent Resistance and Possible Target for Modulation Chemotherapy. *CANCER RESEARCH*. Vol.(50): 6449-6454.En ligne: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/50/20/6449.full.pdf>
142. Weekers L., Krzenski J.M. (2005): La néphropathie diabétique. *Rev. Med. Liège*.60 (5-6) :479-86.
143. WensJ ,Sunaert P ,Feyen L ,C rombruggen PV , 2007 .diabete sucré de type 2 recommandation de bonne pratique .soci été scientifique de médecine générale (ssmg) ,02 :3-72.
144. Werstuck GH. (2006). Molecular and cellular mechanisms by which diabetes Mellitus promotes the development of atherosclerosis.*Biochemistry of atherosclerosis* ed:S.K choma. Springer.Newyork: 284-297.
145. William JM., Marshall S., Stephen K., Bongret., (2005). *Biochimie Medical Physiologie Et Diagnostic*. P: 385.
146. William, T., Cefalu, M.D. (2015).Standards of medical care in diabetes. *American Diabetes Association. The Journal of clinical and applied research and education*.vol 38(1): S8.

147. Winiarska KS, Zymanski K, Gorniak P, Dudziak M, Bryla J. (2008). Hypoglycemic antioxidative and nephroprotective effects of Taurine in alloxandiabetic rabbits. *Biochemie*91:261-270.
148. Wolf G.(2005): Mécanismes moléculaires de l'atteinte rénale d'origine diabétique Flammarion-Médecine-Science. Actualités néphrologiques. 205-216.
149. Wolf G., Ritz E. (2003): Diabetic nephropathy in type 2 diabetes, Prevention and patient management. *J. Am. Soc. Nephrol.*14:1396-1405.
150. Yabe N.C. (1998). Aldose reductase in glucose toxicity: a potential target for the prevention of diabetic complications. *PharmacologicalReviews*. Vol. 50(1): 21-33.Cité par Bouldjadj R. (2009).